

INICIACIÓN A LA FISIOLOGÍA DE LAS PLANTAS

Francisco José García Breijo
Josefa Roselló Caselles
Mª Pilar Santamarina Siurana

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

Francisco José García Breijo
Josefa Roselló Caselles
Mª Pilar Santamarina Siurana

INICIACIÓN A LA FISIOLOGÍA DE LAS PLANTAS

Departamento de Biología Vegetal

Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

EDITORIAL U.P.V

ÍNDICE

TEMA 4. *REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO: LAS HORMONAS VEGETALES*

TEMA 5. *LUZ Y DESARROLLO. EL FOTOPERIODISMO, LA FOTOMORFOGÉNESIS Y EL CONTROL DE LA FLORACIÓN.*

TEMA 6. *LATENCIA DE YEMAS Y SEMILLAS.*

TEMA 7. *GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS*

TEMA 1

LA FOTOSÍNTESIS

1.1. INTRODUCCIÓN AL PROCESO FOTOSINTÉTICO

En una planta más del 90 % de su peso seco está constituido por las diferentes sustancias y moléculas orgánicas que forman sus estructuras celulares o que regulan su metabolismo. Las cadenas carbonadas iniciales que se emplean por las todas las células las proporciona la fotosíntesis.

La vida en la Tierra continúa dependiendo de la fotosíntesis. Los organismos fotosintéticos capturan la energía de la luz y, en una serie de reacciones muy compleja, la utilizan para fabricar los glúcidos, y liberar el oxígeno, a partir del dióxido de carbono y del agua. Los fotosintetizadores principales son las plantas y las algas microscópicas marinas. Alrededor de 100,000 millones de toneladas de carbono al año son fijadas en compuestos orgánicos por los organismos fotosintéticos. La ecuación global de la fotosíntesis puede resumirse de la siguiente manera:

Dióxido de carbono + Agua + Energía de la luz ⟶ Glucosa + Oxígeno

La fotosíntesis es en esencia un proceso de óxido-reducción, en el que el carbono del dióxido de carbono (CO_2) se reduce a carbono orgánico. Aunque en algunos microorganismos fotosintéticos el proceso es algo diferente, la fotosíntesis en las plantas consiste básicamente en la producción de una sustancia orgánica (un glúcido sencillo) a partir de moléculas inorgánicas (el *dióxido de carbono* como sustrato a reducir, y el *agua* como dador de electrones que se oxida), mediante el aprovechamiento de la *energía lumínica* (que queda almacenada como energía química dentro de la molécula sintetizada) y con desprendimiento de *oxígeno*. El proceso global puede expresarse mediante la siguiente reacción:

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O + 686\ \text{kcal/mol} \xrightarrow{luz} C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2$$

El CO_2 se encuentra en la atmósfera, desde donde se traslada por *difusión* (siguiendo un camino inverso al del vapor de agua durante la *transpiración)*, a través del ostiolo hasta las paredes del mesófilo, y desde allí llega hasta los cloroplastos. Este flujo difusional es directamente proporcional a la diferencia de concentraciones de CO_2 e inversamente proporcional a las resistencia que el camino oponga. La diferencia de concentraciones se establece entre la atmósfera, cuya proporción de CO_2 es de aproximadamente un 0.03 %, y el cloroplasto, donde el CO_2 va siendo transformado por fotosíntesis en otros compuestos y no llega a acumularse en forma significativa. De las diversas resistencias a la difusión, la más relevante es la estomática: si los estomas se cierran (debido a un déficit hídrico, por ejemplo) el CO_2 no llegará al cloroplasto y la fotosíntesis se interrumpirá.

Para entender cómo los organismos pueden capturar la energía solar y almacenarla en energía química, debemos primero revisar las características de la propia luz.

1.2. NATURALEZA DE LA LUZ

Hace ya 300 años que el físico inglés Isaac Newton (1642-1727) descompuso la luz visible en colores haciéndola pasar por un prisma. Haciendo pasar la luz descompuesta por un segundo prisma, consiguió recombinar los colores, produciendo luz blanca de nuevo.

En el siglo XIX, con James Clerk Maxwell (1831-1879), se empieza a descifrar la verdadera identidad de la luz, como parte muy pequeña de un espectro continuo de radiación, el espectro de *radiación electromagnética.* Todas las radiaciones de este espectro se comportan como *ondas.* La ***longitud de onda***, es decir, la distancia entre la cresta de una onda y la cresta de la siguiente, va desde décimas de nanómetro (1 nm = 10^{-9} m) en los rayos gamma, hasta kilómetros (1 km = 10^3 m) en las ondas de radio de baja frecuencia. Cada tipo de radiación, con su longitud de onda particular, contiene una determinada energía asociada. Cuanto más larga es la longitud de onda, menor es la energía, y cuanto más corta es la longitud de onda, mayor es la energía que transporta. Dentro del espectro de ***luz visible***, la luz violeta tiene la longitud de onda más corta y la roja, la más larga. Los rayos violetas más cortos contienen casi el doble de energía que los rayos más largos de la luz roja.

De la energía que llega al cloroplasto, sólo el 40% corresponde a la *luz visible*, única radiación fotosintéticamente activa. La luz visible es la radiación cuya longitud de onda está comprendida entre 400 y 700 nm; es en apariencia blanca, pero se compone, como demostró Newton, de diferentes colores, cada uno correspondiente a un rango de ese intervalo (**Figura 1.1**). Las radiaciones con longitudes de onda menores de 400 nm (como la luz ultravioleta) y mayores de 700 (como las infrarrojas) pueden tener diversos efectos biológicos, pero no pueden ser aprovechadas para la fotosíntesis.

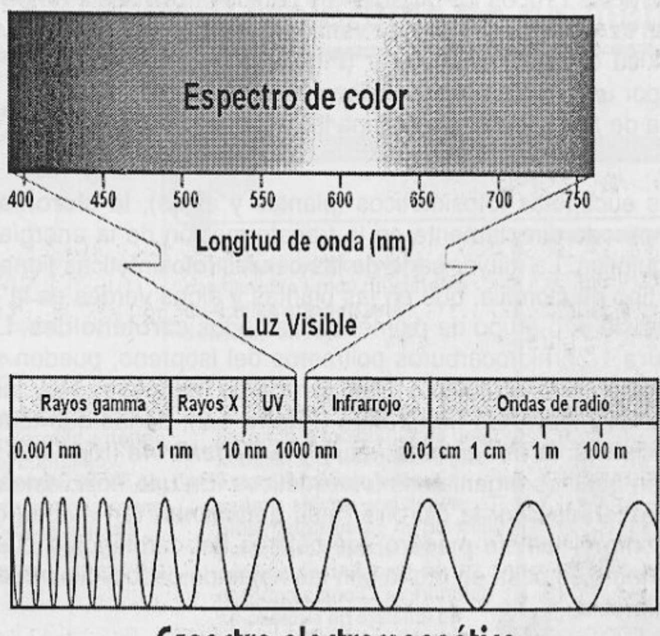


*Figura 1.1. La luz visible constituye una parte muy pequeña de un espectro continuo de radiación, el espectro de radiación electromagnética. Todas las radiaciones de este espectro se comportan como ondas. La **longitud de onda**, es decir, la distancia entre la cresta de una onda y la cresta de la siguiente, va desde décimas de nanómetro (1 nm = 10^{-9} m) en los rayos gamma, hasta kilómetros (1 km = 10^3 m) en las ondas de radio de baja frecuencia. Cada tipo de radiación, con su longitud de onda particular, contiene una determinada energía asociada. Cuanto más larga es la longitud de onda, menor es la energía, y cuanto más corta es la longitud de onda, mayor es la energía que transporta. Dentro del espectro de **luz visible**, la luz violeta tiene la longitud de onda más corta y la roja, la más larga. Los rayos violetas más cortos contienen casi el doble de energía que los rayos más largos de la luz roja. (Modificada de **Mauseth, J.D.**, 1998. "Botany. An Introduction to Plant Biology". 2nd ed. Jones and Bartlett Pub.)*

1.3. CLOROFILA Y OTROS PIGMENTOS

Para que la energía de la luz pueda ser usada por los seres vivos, primero ha de ser absorbida. Una sustancia que absorbe la luz se denomina **pigmento**. Algunos pigmentos absorben la luz en todas las longitudes de onda y por lo tanto tienen un color negro. Otros sólo absorben ciertas longitudes de onda y reflejan o transmiten las longitudes de onda que no absorben. Por ejemplo, la clorofila, el pigmento que hace que las hojas sean verdes, absorbe la luz en el espectro violeta y azul y también en el rojo. Puesto que transmite y refleja la luz verde, su aspecto es verde.

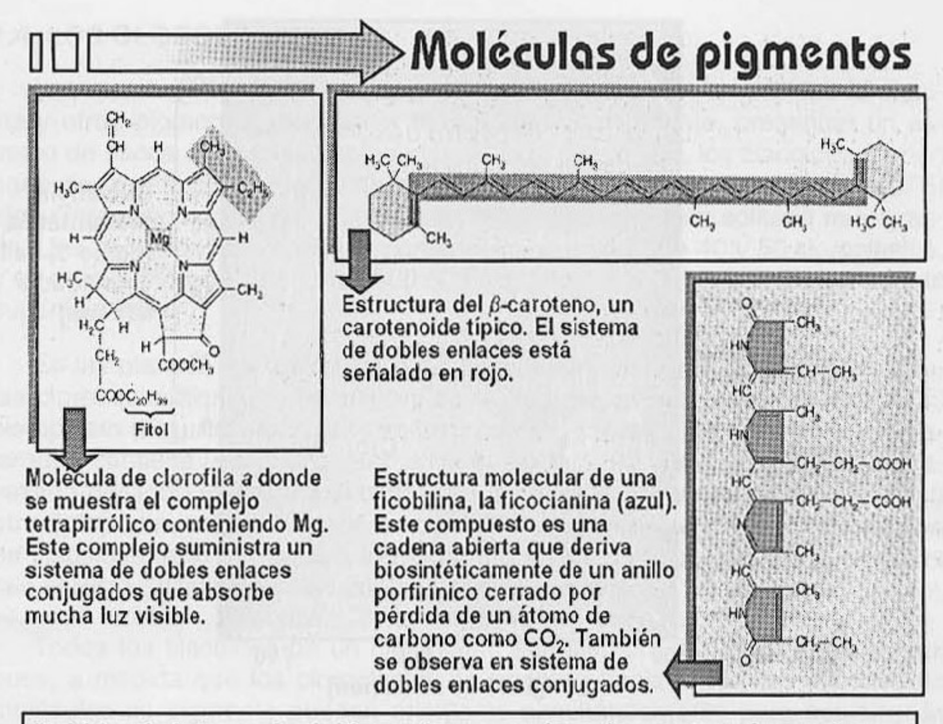
Los diversos grupos de organismos fotosintéticos usan varios tipos de pigmentos en la fotosíntesis. Existen varias clases de **clorofila**, que varían ligeramente en su estructura molecular (**Figura 1.2**). La molécula de clorofila está formada por una cabeza tetrapirrólica con un átomo de magnesio en su centro, y una cola de *fitol* (alcohol de cadena larga).

En los eucariotas fotosintéticos (plantas y algas), la **clorofila *a*** es el pigmento implicado directamente en la transformación de la energía de la luz en energía química. La mayor parte de las células fotosintéticas tienen también un segundo tipo de clorofila, que en las plantas y algas verdes es la **clorofila *b***, y cantidades de otro grupo de pigmentos llamados **carotenoides**. Los carotenoides (**Figura 1.2**), hidrocarburos polímeros del isopreno, pueden ser de dos tipos: los ***carotenos*** (amarillos) y las ***xantofilas*** (naranjas). Hay también un tercer tipo de pigmento, las **ficobilinas** (**Figura 1.2**), de las que también hay dos tipos principales: la ***ficocianina*** (azul) y la ***ficoeritrina*** (roja) que se presentan también en algunos organismos fotosintéticos. En una hoja, estos colores quedan enmascarados por la clorofila, más abundante. Sin embargo, en algunos tejidos, como el tomate maduro, los colores del carotenoide pueden dominar cosa que también pasa en otoño con las hojas de caducifolios cuando dejan de fabricar clorofila.

La clorofila *b*, los carotenoides y las ficobilinas son capaces de absorber la luz a diferentes longitudes de onda que la clorofila *a*. Al parecer, pueden hacer pasar la energía a la clorofila *a*, con lo que se incrementa la cantidad de luz disponible para la fotosíntesis.

La relación entre la fotosíntesis y la presencia de estos pigmentos queda claramente de manifiesto cuando se compara el *espectro de acción* de la fotosíntesis (eficiencia fotosintética frente a longitud de onda) con los *espectros de absorción* de las clorofilas. Tal como se observa en la **Figura 1.3**, ambos espectros coinciden en lo referente a las longitudes de onda donde la eficiencia fotosintética es más alta y donde la absorción luminosa de los pigmentos es mayor.

Cuando un pigmento absorbe luz, los electrones de las moléculas son lanzados a niveles energéticos superiores. En la mayoría de los casos, los electrones vuelven a su estado inicial casi de inmediato. La energía desprendida cuando regresan al nivel energético puede (1) emitirse de nuevo en una longitud de onda superior, fenómeno que se conoce como *fluorescencia*, (2) disiparse en forma de calor (*conversión interna*), o (3) ser absorbida por una molécula vecina, que lanza sus electrones a niveles de energía superiores (*transferencia de excitón por resonancia inductiva*).



Debido al sistema de dobles enlaces conjugados, estos pigmentos pueden absorber luz visible.

Figura 1.2. *Los diversos grupos de organismos fotosintéticos usan varios tipos de pigmentos en la fotosíntesis. Existen varias clases de* ***clorofila****, que varían ligeramente en su estructura molecular. La molécula de clorofila está formada por una cabeza tetrapirrólica con un átomo de magnesio en su centro, y una cola de fitol (alcohol de cadena larga). Un segundo tipo de pigmentos son los* ***carotenoides,*** *hidrocarburos polímeros del isopreno, pueden ser de dos tipos: los* ***carotenos*** *(amarillos) y las* ***xantofilas*** *(naranjas). Hay también un tercer tipo de pigmento, las* ***ficobilinas,*** *de las que también hay dos tipos principales: la* ***ficocianina*** *(azul) y la* ***ficoeritrina*** *(roja) que se presentan también en algunos organismos fotosintéticos.*

En otros casos, sin embargo, la energía absorbida activa una reacción química. La energía absorbida por el pigmento lanza un electrón de su molécula, que entonces se oxida. Este electrón de alta energía es captado por otra molécula, que, por lo tanto, se reduce. Es lo que se llama *fotooxidación.* La posibilidad de que la reacción química sé produzca, no sólo depende de la estructura de un determinado pigmento, sino de su asociación con otras moléculas vecinas. La clorofila puede convertir la energía de la luz en energía química, proceso que se inicia con una simple oxidación-reducción, cuando se halla asociada a determinadas proteínas y englobada en una membrana especializada.

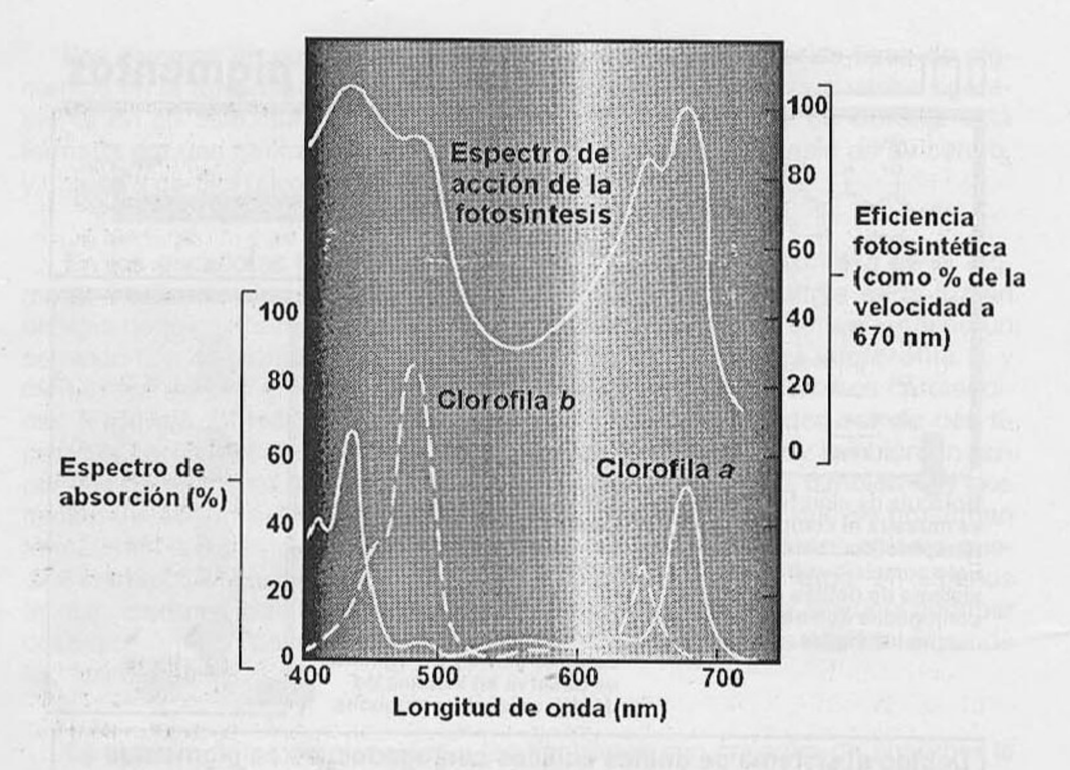


Figura 1.3. Espectro de absorción de las clorofilas a y b y espectro de acción de la fotosíntesis. El eje horizontal muestra la longitud de onda, desde 400 nm (luz azul) hasta 750 nm (luz roja). El eje vertical de la izquierda muestra el porcentaje de absorción de las clorofilas en cada longitud de onda; el eje vertical de la derecha indica la eficiencia fotosintética medida como % del proceso fotosintético medido a 670 nm. Como puede verse, las clorofilas absorben en zonas determinadas del espectro visible que coinciden con los mejores resultados en el rendimiento fotosintético. (Modificada de ***Mauseth, J.D.****, 1998. "Botany. An Introduction to Plant Biology". 2nd ed. Jones and Bartlett Pub.)*

Cuando una molécula de clorofila absorbe un fotón, pasa a un estado inestable de mayor energía, denominado *estado excitado*, en el que un electrón periférico se desplaza hacia una posición más externa. Si este electrón pasa a otra molécula (fotooxidación), la energía se habrá transmitido y la molécula de clorofila permanecerá excitada; para volver a su *estado fundamental* deberá recibir otro electrón que ocupe el hueco dejado por el primero. Cuando coexisten numerosas moléculas de clorofila agrupadas y ordenadas, la energía absorbida por cualquiera de ellas puede transmitirse por resonancia (transferencia de excitón) a todo el conjunto, sin que haya transferencia de electrones. Ambos tipos de transferencia de energía tienen lugar en el proceso de absorción de luz por los pigmentos fotosintéticos.

1.4. LOS CLOROPLASTOS

Las membranas especializadas, donde se encuentran embebidas la clorofila y otros pigmentos, se llaman **tilacoides**. Normalmente, presentan un aspecto de sacos o vesículas aplanadas. En los eucariotas, los tilacoides forman parte de la estructura interna de orgánulos especializados, los cloroplastos. El alga *Chlamydomonas*, por ejemplo, contiene un cloroplasto solitario muy grande. Una célula de hoja contiene característicamente entre 40 y 50 cloroplastos, y no es extraño encontrar unos 500.000 cloroplastos por milímetro cuadrado de superficie foliar.

En las plantas, los cloroplastos se encuentran presentes en todas las células clorenquimáticas del mesófilo y de la periferia de los tallos herbáceos. El cloroplasto (**Figura 1.4**) está delimitado por *dos membranas* (la interna y la externa) y contiene una matriz interna o ***estroma***. El estroma se encuentra atravesado por todo el sistema tilacoidal de membranas (o *lamelas*) que delimitan otro compartimiento, el ***lumen*** o ***espacio intratilacoidal***. Los agrupamientos de tilacoides apilados forman los ***grana*** (pilas de lamelas granales), mientras que el resto de tilacoides forman las *lamelas estromales*.

Todos los tilacoides de un cloroplasto son siempre paralelos entre sí. Así pues, a medida que los cloroplastos se orientan hacia la luz, los millones de moléculas de pigmento pueden orientarse simultáneamente para optimizar la recepción, como si fueran pequeñas antenas electromagnéticas.

1.5. LAS ETAPAS DE LA FOTOSÍNTESIS

Las reacciones de la fotosíntesis tienen lugar en dos etapas. En la primera etapa (las **reacciones dependientes de la luz**) o ***fase luminosa***, la luz impacta en las moléculas de clorofila *a* que están empaquetadas en una ordenación especial, en las membranas tilacoidales. Los electrones de la clorofila *a* son lanzados a niveles energéticos superiores, y las moléculas de clorofila *a* se oxidan. En una secuencia de reacciones, la energía que llevan estos electrones se usa para formar ATP a partir del ADP y para reducir una molécula llamada $NADP^+$. Las moléculas de agua se escinden en esta etapa para dar electrones que se usan para sustituir los que se marchan de la clorofila *a*.

En la segunda etapa de la fotosíntesis (las **reacciones independientes de la luz**) o ***fase oscura***, el ATP y el NADPH, formados durante la primera etapa, se usan para reducir el dióxido de carbono a un glúcido sencillo. Así pues, la energía química, temporalmente almacenada en las moléculas de ATP y NADPH, se transfiere a moléculas diseñadas para el transporte y el almacenaje en las células del alga o en el cuerpo de la planta. Al nivel tiempo, se forma una cadena carbonada con la cual pueden fabricarse otros compuestos necesarios. Esta incorporación de dióxido de carbono en forma de materia orgánica, se denomina **fijación del carbono**, y se produce en el estroma del cloroplasto.

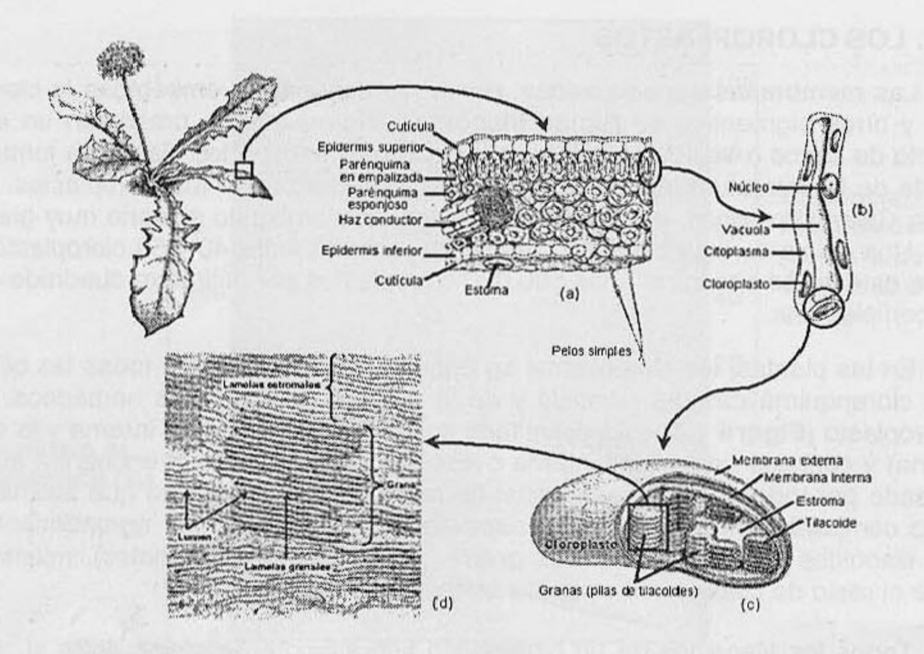
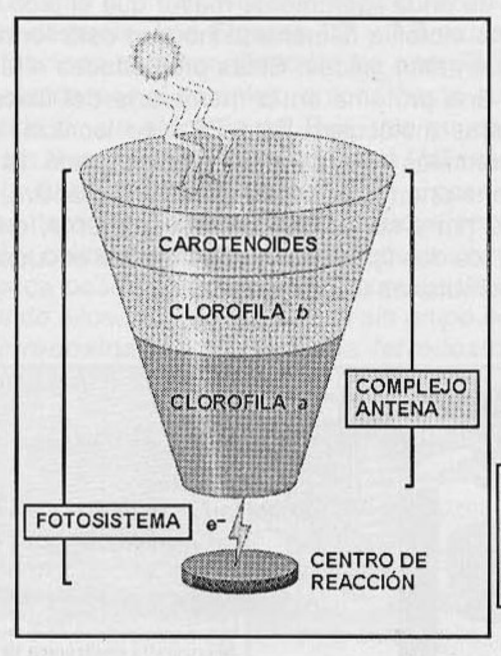


*Figura 1.4. Viaje microscópico por un diente de león (Taraxacum officinale). (a) El oxígeno, el CO_2 y otros gases penetran en la hoja a través de los estomas. Estos gases y el vapor de agua llenan los espacios intracelulares del parénquima esponjoso, permitiendo su circulación hacia las células por difusión. El agua, absorbida por las raíces, llega a la hoja por los haces conductores, y los glúcidos, producto de la fotosíntesis, abandonan la hoja por la misma vía, dirigiéndose hacia las partes no fotosintéticas de la planta. La mayor parte de la fotosíntesis se desarrolla en las células del parénquima en empalizada (b), células alargadas situadas debajo de la epidermis. Las células en empalizada contienen una gran vacuola central y numerosos cloroplastos (c) que se mueven en el citosol, orientándose respecto a la luz. La luz se captura en las membranas del interior del cloroplasto(c). En (d) se aprecian una pila de tilacoides (grana). El espacio interno de los tilacoides se halla comunicado con otros tilacoides, formando el espacio intratilacoidal (lumen), que contiene una disolución diferente del estroma o del citosol. (Modificada de **Curtis, H., y Barnes, N.**, 1997. "Invitación a la Biología". 5ª ed. Ed. Panamericana.)*

1.5.1. LAS REACCIONES DEPENDIENTES DE LA LUZ

En el cloroplasto, los pigmentos están estrechamente asociados a proteínas y se alojan en la bicapa lipídica de los tilacoides. Según el modelo admitido actualmente, estos complejos proteína-clorofila se encuentran empaquetados formando unidades denominadas **fotosistemas** (**Figura 1.5**). Cada unidad contiene de 200 a 400 moléculas de pigmento que tienen por finalidad captar la luz como una antena, forman el llamado ***complejo antena***. Cuando la energía de la luz se absorbe por uno de los pigmentos de la antena, pasa de una molécula a otra de pigmento del fotosistema hasta que alcanza una forma especial de clorofila *a* que constituye el ***centro de reacción*** del fotosistema.



El Complejo Antena

Los complejos antena o complejos recolectores de luz presentes en los cloroplastos funcionan como un embudo; colectan los fotones y transfieren la energía hasta los centros de reacción.

Figura 1.5. *El sistema colector de luz de los fotosistemas funciona como un embudo, donde la energía de los fotones captados por los distintos pigmentos del complejo antena es enviada hasta el centro de reacción. (Modificada de* ***Moore, R., Clark, W.D. and Vodopich, D.S.****, 1998. "Botany". 2nd ed. WCB.McGraw-Hill.)*

Los pigmentos antena son los encargados de absorber la energía lumínica y transferirla por resonancia al centro de reacción. Al recibir esta energía, la clorofila del centro de reacción pierde un electrón, que es transferido a una serie de transportadores de electrones. Los transportadores actúan en cadena, captando el electrón (y por tanto reduciéndose) y seguidamente cediéndolo (y por tanto oxidándose) a la siguiente molécula.

También los carotenoides, que se encuentran íntimamente asociados con las clorofilas de los complejos antena, captan energía en sus longitudes de onda características y la transfieren a las clorofilas (aunque con menos eficiencia); tienen además una función protectora, ya que absorben excesos de energía que podrían dar lugar a la formación de compuestos nocivos.

Los datos actuales indican que hay dos tipos de fotosistemas (**Figura 1.6**). Los dos fotosistemas se diferencian en sus proporciones de clorofila *a* y *b*, en las características de sus centros de reacción, y en los transportadores de electrones que los acompañan. En el **fotosistema I (FS I)** la molécula reactiva de clorofila *a* se denomina **P_{700}**, ya que uno de los máximos, en la curva de ab-

sorción es en los 700 nm, longitud de onda ligeramente mayor que el pico normal de la clorofila *a*. P_{700} no es una clorofila diferente, sino que está formado por dos moléculas de clorofila *a* que están unidas. Estas propiedades diferentes se deben a la asociación con una proteína en la membrana del tilacoide y a su posición con respecto a otras moléculas. Este FS I se localiza, casi exclusivamente, en las lamelas estromales y en la periferia de los grana. El **Fotosistema II** (**FS II**) también contiene una molécula de clorofila *a* reactiva, denominada **P_{680}**, que absorbe a 680 nm y se localiza, preferentemente, en las lamelas granales (grana). Es decir, los dos tipos de fotosistemas se encuentran espacialmente separados en las membranas tilacoidales.

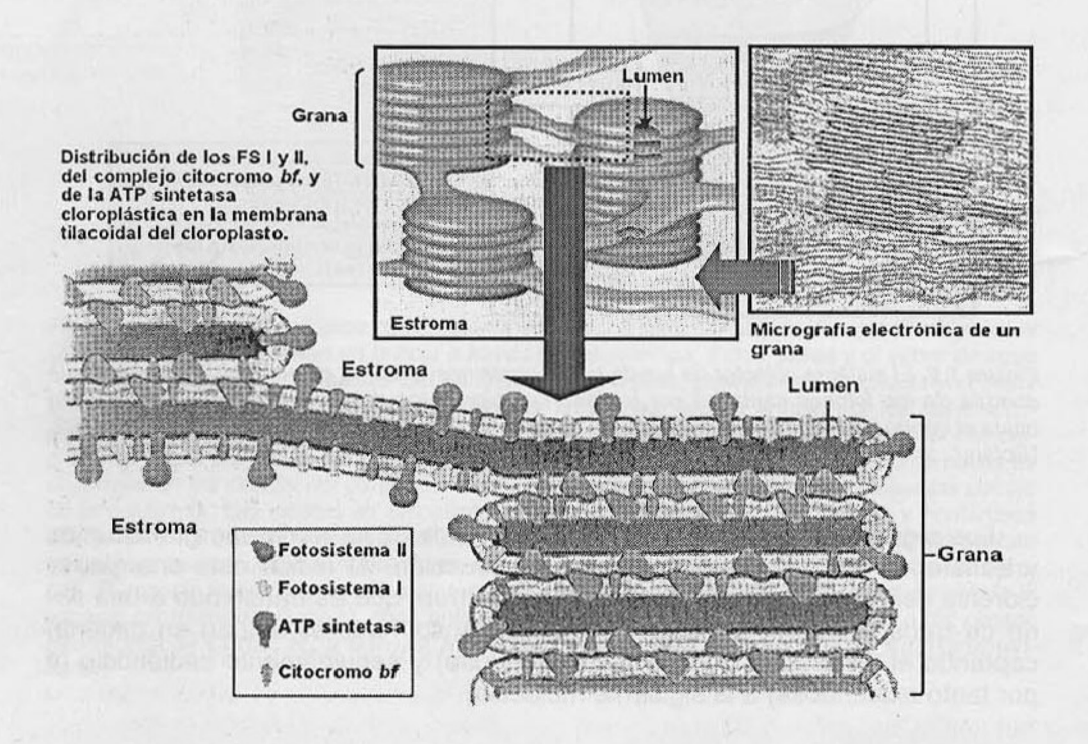


Figura 1.6. Los datos actuales indican que hay dos tipos de fotosistemas. Los dos fotosistemas se diferencian en sus proporciones de clorofila a y b, en las características de sus centros de reacción, y en los transportadores de electrones que los acompañan. En el ***fotosistema I (FS I)*** *la molécula reactiva de clorofila a se denomina* ***P_{700}****, ya que uno de los máximos, en la curva de absorción es en los 700 nm, longitud de onda ligeramente mayor que el pico normal de la clorofila a. P_{700} no es una clorofila diferente, sino que está formado por dos moléculas de clorofila a que están unidas. Estas propiedades diferentes se deben a la asociación con una proteína en la membrana del tilacoide y a su posición con respecto a otras moléculas. Este FS I se localiza, casi exclusivamente, en* ***las lamelas estromales*** *y en la periferia de los grana. El* ***Fotosistema II (FS II)*** *también contiene una molécula de clorofila a reactiva, denominada* ***P_{680}****, que absorbe a 680 nm y se localiza, preferentemente, en las* ***lamelas granales*** *(grana). Es decir, los dos tipos de fotosistemas se encuentran espacialmente separados en las membranas tilacoidales. (Modificada de* ***Rawn, J.D.*** *1989. "Bioquímica". Vol. 1. Interamericana.McGraw-Hill.)*

Durante las reacciones de la fase lumínica los dos fotosistemas actúan coordinadamente. Las **Figuras 1.7** y **1.8** muestran el conocimiento actual de cómo funciona esta coordinación. La energía absorbida (***1 fotón***) por el FS I es transferida por el complejo antena hasta su centro de reacción lo provoca la pérdida de ***un electrón*** del P_{700}, que queda entonces en un estado inestable, con un "hueco" electrónico que será "rellenado" por un electrón procedente del FS II. El electrón perdido por el P_{700} pasa a una cadena de transportadores presente en la membrana tilacoidal que se van reduciendo (al aceptar el electrón) y oxidando (al transferirlo) sucesivamente, con un nivel energético menor en cada paso. Luego de varios compuestos intermedios poco conocidos (muchos de ellos *ferrosulfoproteínas sin grupo hemo*: F_X, F_B, F_A), el electrón pasa a la ***ferredoxina***, y por último a la ***ferredoxin NADP⁺ oxidorreductasa*** que reduce al $NADP^+$ (forma oxidada del NADPH), según la siguiente reacción:

$$NADP^+ + 2\,e^- + H^+ \leftrightarrow NADPH$$

Como se observa, para que se produzca esta reacción hace falta un protón, que procede del espacio intratilacoidal, y dos electrones, cedidos por el P_{700}, razón por la cual el flujo electrónico del FS I deberá tener lugar dos veces para reducir cada molécula de $NADP^+$, es decir, deberán ser absorbidos 2 fotones por el FS I para que se liberen 2 electrones.

Por otra parte, cuando la energía luminosa (*un fotón*) incide sobre el fotosistema II y es transferida en último término hasta la molécula P_{680} de clorofila *a*, de su centro de reacción, provoca que *un electrón* de la molécula P_{680} sea impulsado a un nivel energético superior, quedando P_{680} en un estado inestable. El electrón se transfiere luego a una primera molécula aceptora de electrones, la ***feofitina***, que capta electrones con un nivel electrónico superior al que puede tener la clorofila *a*. A continuación (**Figuras 1.7** y **1.8**), el electrón desciende por una cadena de transporte electrónico formada por transportadores de nivel energético sucesivamente menor: ***plastoquinona (PQ)***, ***citocromo bf (cit bf)***, y ***plastocianina (PC)***. De este último compuesto, el electrón pasa a ocupar el "hueco" electrónico del P_{700}, que de esta manera recupera su estado normal y queda listo para volver a absorber energía y reiniciar el proceso. En el caso del P_{680}, su "hueco" electrónico será ocupado por un electrón procedente de la oxidación del agua.

El FS I funciona así como un fuerte reductor, capaz de producir NADPH, que será utilizado en las reacciones de la fase oscura para reducir el CO_2 a carbono orgánico.

El P_{680} se comporta como un fuerte oxidante que, en su estado inestable es capaz de inducir la *oxidación del agua* (fotólisis del agua), en la que se desprende oxígeno (O_2) como puede verse en la siguiente reacción:

$$2\,H_2O \longrightarrow O_2 + 4\,H^+ + 4\,e^-$$

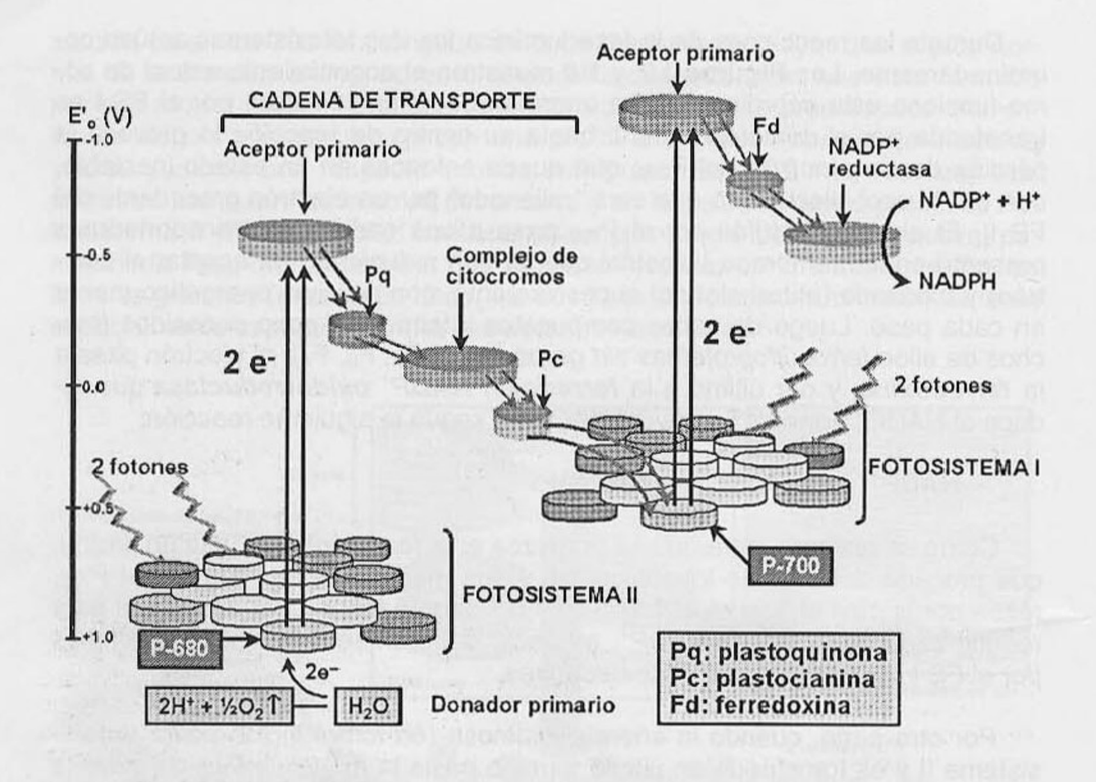


*Figura 1.7. Durante las reacciones de la fase lumínica los dos fotosistemas actúan coordinadamente. La energía absorbida **(1 fotón)** por el **FS I** es transferida por el complejo antena hasta su centro de reacción lo provoca la pérdida de **un electrón** del P_{700}, que queda entonces en un estado inestable, con un "hueco" electrónico que será "rellenado" por un electrón procedente del FS II. El electrón perdido por el P_{700} pasa a una cadena de transportadores presente en la membrana tilacoidal que se van reduciendo (al aceptar el electrón) y oxidando (al transferirlo) sucesivamente, con un nivel energético menor en cada paso. Luego de varios compuestos intermedios poco conocidos, el electrón pasa a la **ferredoxina (Fd)**, y por último a la **ferredoxin $NADP^+$ oxidorreductasa** que reduce al $NADP^+$ (forma oxidada del NADPH), según la siguiente reacción:*

$$NADP^+ + 2e^- + H^+ \leftrightarrow NADPH$$

A través de ciertos transportadores poco conocidos, los electrones liberados aquí pasan a ocupar el hueco electrónico del P_{680}, que queda así listo para volver a absorber energía. Los protones que se liberan pasan a acumularse en el espacio intratilacoidal, de donde proceden los H^+ necesarios para reducir al $NADP^+$.

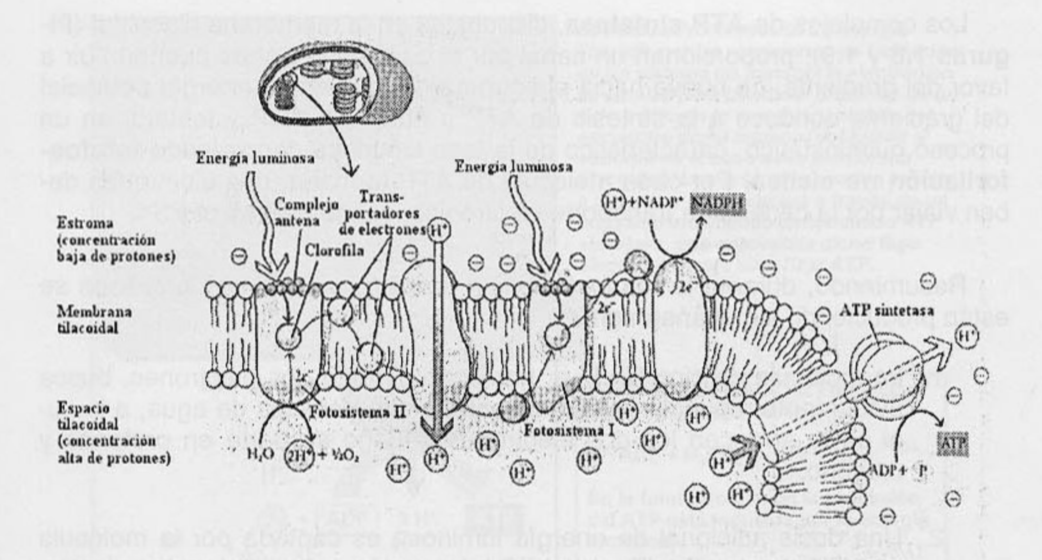


Figura 1.8. *Dispuestas dentro de la membrana tilacoidal, o muy íntimamente asociadas a ella, se encuentran las moléculas y los complejos moleculares que participan en las reacciones dependientes de la luz en la fotosíntesis. Entre éstas se distinguen los pigmentos, las proteínas, los fotosistemas I y II, los transportadores de ambas cadenas de transporte electrónico y las enzimas necesarias, incluyendo las ATP sintetasas. La disposición de estas moléculas en la membrana tilacoidal hace posible la síntesis quimiosmótica del ATP durante la fotofosforilación. En este proceso, los electrones de la molécula reactiva de clorofila a del fotosistema II son impulsados a niveles energéticos superiores por la energía solar. A medida que descienden por una cadena de transportadores electrónicos hacia la molécula reactiva de clorofila a del fotosistema I, la energía que liberan se usa para bombear protones a través de uno de los complejos transportadores. Los protones se bombean desde el estroma al espacio tilacoidal. Esto crea un gradiente electroquímico de energía potencial. Cuando los protones se mueven a favor del gradiente a través de un complejo ATP sintetasa, desde el espacio tilacoidal al estroma del cloroplasto, el ADP se fosforila a ATP. (Modificada de* ***Curtis, H., y Barnes, N.****, 1997. "Invitación a la Biología". 5ª ed. Ed. Panamericana.)*

Durante el transporte de electrones entre el FS II y el FS I, concretamente cuando pasan desde la PQ a los cit *bf*, se libera energía que sirve para bombear protones desde el estroma hacia el espacio intratilacoidal (lumen). Esto hace que este espacio se vaya acidificando como consecuencia (1) de la acumulación de los protones que pierde el agua al oxidarse y (2) con los protones que se transfieren desde el estroma. La concentración de protones es este compartimiento pasa a ser mucho mayor que en el estroma, y se genera de esta manera un potencial de membrana. Se establece, por lo tanto, un gradiente de protones a través de la membrana tilacoidal.

Los complejos de **ATP sintetasa**, dispuestos en la membrana tilacoidal (**Figuras 1.8** y **1.9**), proporcionan un canal por el cual los protones pueden fluir a favor del gradiente, de nuevo hacia el estroma. Al hacerlo, la energía potencial del gradiente conduce a la síntesis de ATP a partir del ADP y fosfato, en un proceso quimiostático característico de la fase luminosa denominado **fotofosforilación no cíclica**. Por cada molécula de ATP formada, dos electrones deben viajar por la cadena de transporte electrónico, desde el FS II al FS I.

Resumiendo, durante la *fotofosforilación no cíclica*, otros tres procesos se están produciendo simultáneamente:

1. La molécula de clorofila P_{680}, habiendo perdido dos electrones, busca ávidamente repuestos. Los encuentra en la molécula de agua, a la cual se le arrancan los dos electrones y luego se parte en protones y oxígeno.

2. Una dosis adicional de energía luminosa es captada por la molécula reactiva de clorofila (P_{700}) del FS I. La molécula se oxida y los electrones son lanzados a un aceptor de electrones primario, a partir del cual descienden hacia el $NADP^+$. Dos electrones y un protón se combinan con el $NADP^+$ para formar NADPH.

3. Los electrones separados de la molécula P_{700} del FS I son sustituidos por los electrones que fueron captados por el aceptor primario de electrones del FS II y que han descendido por la cadena de transporte electrónico.

Por lo tanto, *cuando hay luz*, se produce un flujo continuo de electrones:

Agua $\rightarrow$FS II $\rightarrow$FS I $\rightarrow$$NADP^+$

Para que dos electrones del agua sean captados por el $NADP^+$ hacen falta 4 fotones (2 que son absorbidos por el FS II y otros 2 que lo son por el FS I).

El recorrido de los electrones en el FS I puede seguir también un camino cíclico (**Figura 1.10**), regresando el electrón del P_{700} a esta misma molécula (a través de los cit *bf* y la PC); en este caso también se produce un bombeo de protones al espacio intratilacoidal que permite la *síntesis de ATP adicional* (***fotofosforilación cíclica***), pero que *no generará poder reductor*, ya que los electrones no llegan al $NADP^+$, *ni se liberará oxígeno*, porque no podrá haber oxidación del agua.

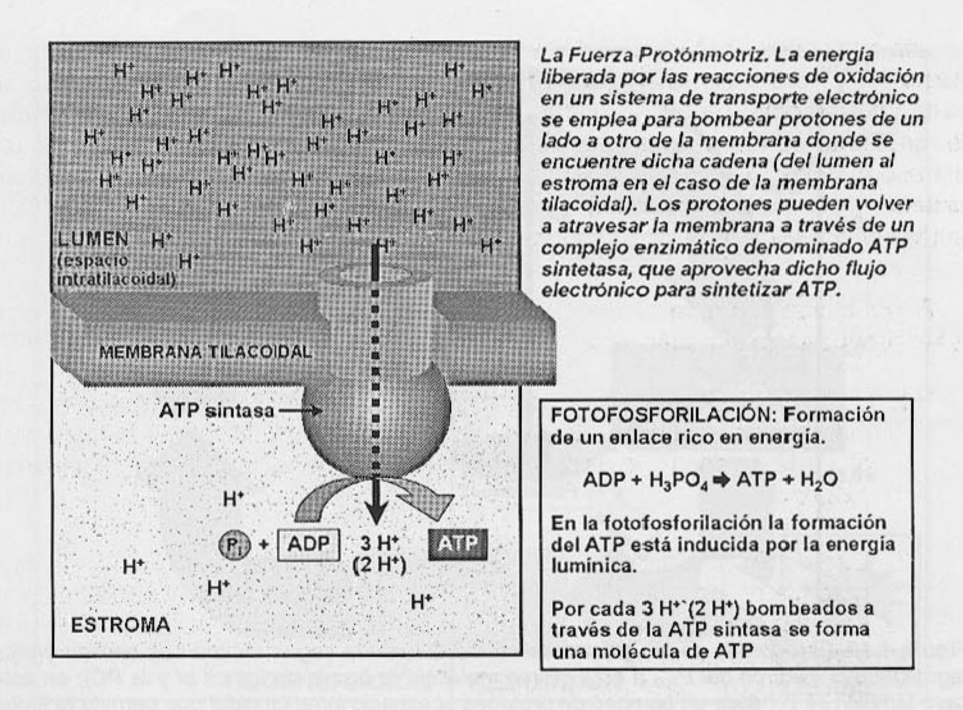


Figura 1.9. Los complejos de ***ATP sintetasa****, dispuestos en la membrana tilacoidal proporcionan un canal por el cual los protones pueden fluir a favor del gradiente, de nuevo hacia el estroma. Al hacerlo, la energía potencial del gradiente conduce a la síntesis de ATP a partir del ADP y fosfato, en un proceso quimiostático característico de la fase luminosa denominado* ***fotofosforilación****. Por cada molécula de ATP formada, dos electrones deben viajar por la cadena de transporte electrónico, desde el FS II al FS I.*

1.5.2. LAS REACCIONES INDEPENDIENTES DE LA LUZ (LA FASE OSCURA)

En la primera fase de la fotosíntesis, la energía de la luz se convierte en energía eléctrica -el flujo de electrones- y la energía eléctrica se convierte en energía química que se almacena en los enlaces del NADPH (gran poder reductor) y ATP (alto contenido energético). En la segunda fase de la fotosíntesis, esta energía se usa para reducir el carbono y sintetizar glúcidos sencillos.

Las células fotosintéticas obtienen el carbono del CO_2. Las células de las algas obtienen el CO_2 directamente del agua que las rodea. En las plantas, en cambio, el CO_2 llega a las células a través de unos poros especializados, llamados **estomas**, que se encuentran en las hojas y tallos verdes.

Las reacciones de la segunda fase de la fotosíntesis requieren la presencia de las moléculas NADPH y ATP, que sólo se forman en presencia de luz. Sin embargo, mientras haya disponibilidad de estas moléculas, estas reacciones pueden producirse, independientemente de si hay luz o no. Por eso se denominan reacciones "independientes" de la luz.

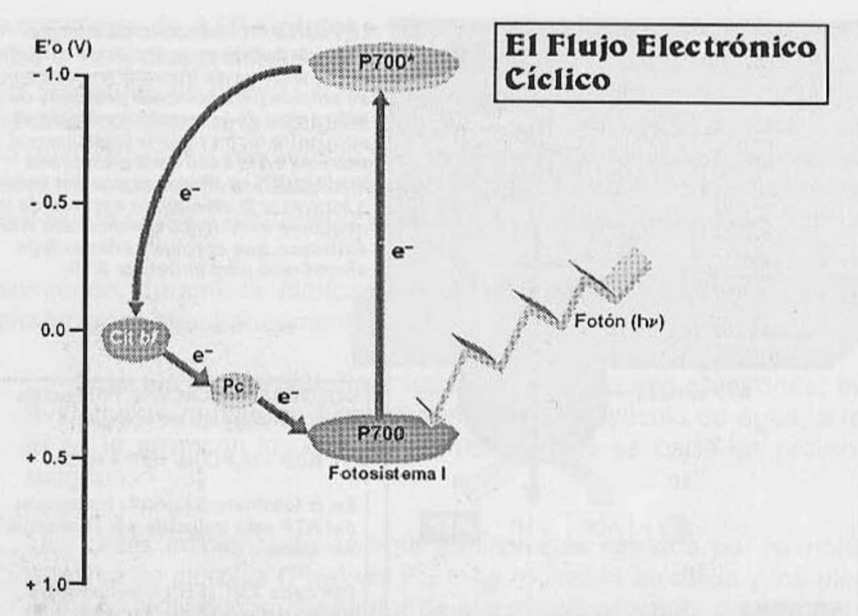


*Figura 1.10. El recorrido de los electrones en el FS I puede seguir también un camino cíclico regresando el electrón del P_{700} a esta misma molécula (a través de los cit bf y la PC); en este caso también se produce un bombeo de protones al espacio intratilacoidal que permite la síntesis de ATP adicional (**fotofosforilación cíclica**), pero que no generará poder reductor, ya que los electrones no llegan al $NADP^+$, ni se liberará oxígeno, porque no podrá haber oxidación del agua.*

1.6. EL CICLO DE CALVIN. LA RUTA DE LAS CADENAS HIDROCARBONADAS

La reducción del carbono tiene lugar en el estroma, en una serie cíclica de reacciones que toma el nombre de su descubridor, Melvin Calvin. El compuesto inicial (y final) del ciclo de Calvin (**Figura 1.11**), es un glúcido de cinco carbonos (pentosa) combinado con dos grupos fosfatos, la **ribulosa difosfato** (**RuDP**). En este ciclo podemos distinguir tres etapas: una de fosforilación, una de reducción y una de regeneración.

El ciclo comienza cuando el dióxido de carbono se une a la RuDP (**Figura 1.12**), que se escinde inmediatamente en dos moléculas de **ácido fosfoglicérico** o **PGAc**. Esta reacción está catalizada por una enzima específica, la **RuDP carboxilasa oxigenasa** (conocida también como **RuBisCO**), que constituye más del 15 por ciento de la proteína del cloroplasto. De hecho, la RuBisCO se supone que es la proteína más abundante de la Tierra. Cada una de las moléculas de PGAc formadas en la reacción inicial contienen tres átomos de carbono; por esto, el ciclo de Calvin se conoce también como **ruta C_3**.

$$CO_2 + RuDP \longrightarrow 2\ PGAc$$

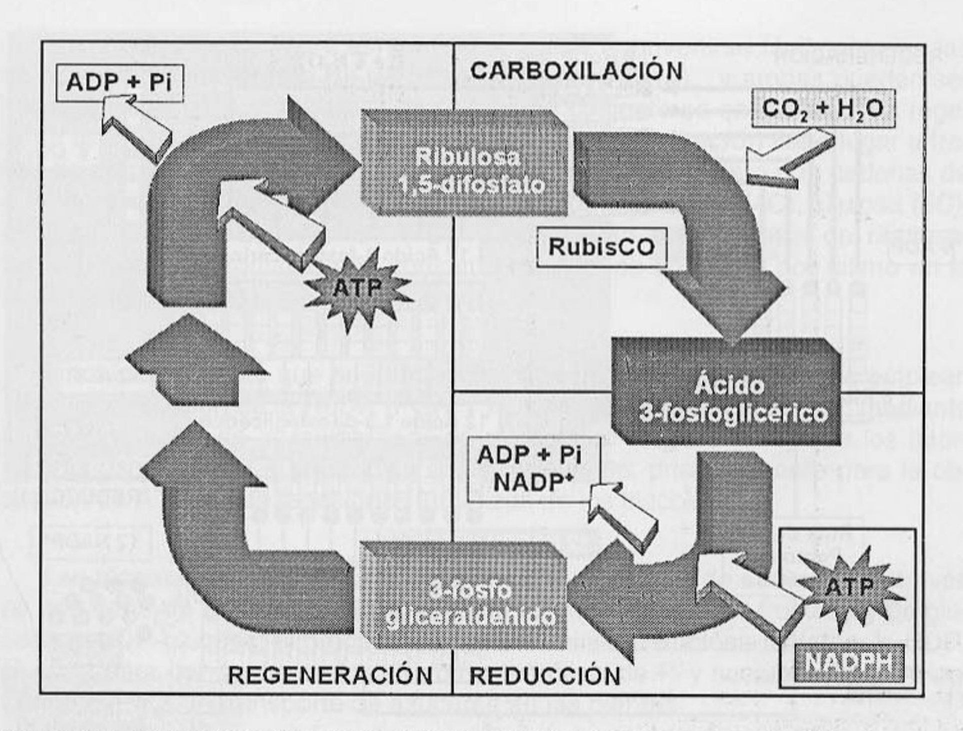


Figura 1.11. La reducción del carbono tiene lugar en el estroma, en una serie cíclica de reacciones que toma el nombre de su descubridor, Melvin Calvin. El compuesto inicial (y final) del ciclo de Calvin es un glúcido de cinco carbonos (pentosa) combinado con dos grupos fosfatos, la ***ribulosa difosfato (RuDP)****. En este ciclo podemos distinguir tres etapas: una de fosforilación, una de reducción y una de regeneración.*

El ácido fosfoglicérico (PGAc) debe reducirse, pero para ello el PGAc debe previamente activarse, lo que consigue añadiendo otro grupo fosfato a su molécula mediante una ***fosforilación*** que requiere el empleo de ATP (procedente de la fase luminosa) y en la que se obtiene **ácido difosfoglicérico (DPGAc)**:

2 PGAc + 2 ATP ⟶ 2 DPGAC + 2 ADP

Una vez activado, el ácido está en condiciones de reducirse a aldehído, en este caso a **fosfogliceraldehido (PGAl)**. En esta ***reducción***, se consume NADPH (procedente de la etapa luminosa), y se pierde el fosfato adicional:

2 DPGAc + 2 NADPH ⟶ 2 PGAl + 2 $NADP^+$ + 2 P_i

El PGAl es ya un glúcido sencillo, una triosa, por lo que con estas reacciones se ha logrado la transformación del carbono inorgánico en una molécula orgánica, y se ha cumplido lo esencial de la fotosíntesis.

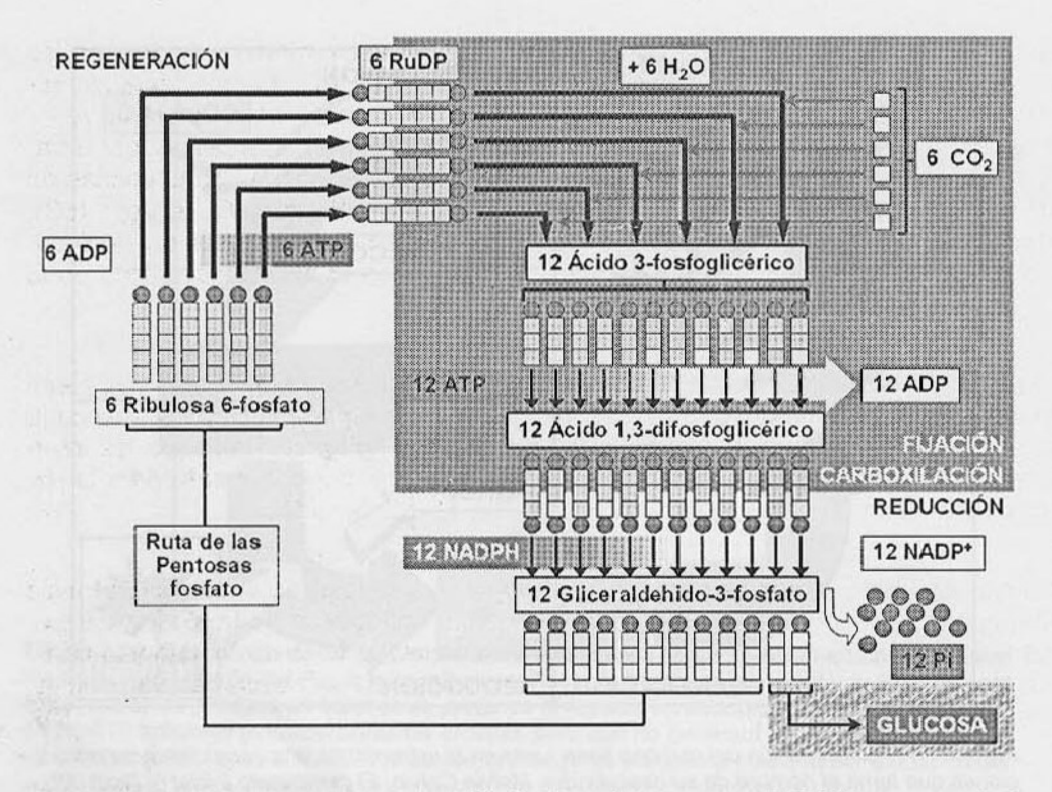


Figura 1.12. El ciclo comienza cuando el dióxido de carbono se une a la RuDP, que se escinde inmediatamente en dos moléculas de ***ácido fosfoglicérico*** *o* ***PGAc****. Esta reacción está catalizada por una enzima específica, la* ***RuDP carboxilasa oxigenasa (RuBisCO)****.*

$$CO_2 + RuDP \longrightarrow 2\,PGAc$$

El ácido fosfoglicérico (PGAc) debe reducirse, pero para ello el PGAc debe previamente activarse, lo que consigue añadiendo otro grupo fosfato a su molécula mediante una ***fosforilación*** *que requiere el empleo de ATP (procedente de la fase luminosa) y en la que se obtiene* ***ácido difosfoglicérico (DPGAc)****:*

$$2\,PGAc + 2\,ATP \longrightarrow 2\,DPGAC + 2\,ADP$$

Una vez activado, el ácido está en condiciones de reducirse a aldehído, en este caso a ***fosfogliceraldehido (PGAl)****. En esta* ***reducción****, se consume NADPH (procedente de la etapa luminosa), y se pierde el fosfato adicional:*

$$2\,DPGAc + 2\,NADPH \longrightarrow 2\,PGAl + 2\,NADP^+ + 2\,P_i$$

El PGAl es ya un glúcido sencillo, una triosa, por lo que con estas reacciones se ha logrado la transformación del carbono inorgánico en una molécula orgánica, y se ha cumplido lo esencial de la fotosíntesis.

Las moléculas de PGAl así formadas pueden convertirse fácilmente en las de su isómero, el ***fosfato de dihidroxiacetona (PDHA)****, y ambas pueden seguir diferentes caminos, pero buena parte del conjunto se encaminarán a regenerar la RuDP con la que se inició el ciclo. Esta* ***regeneración*** *tiene lugar a través de complejas rutas en las que se forman azúcares-fosfato con cadenas de 4, 5, 6 y 7 átomos de carbono, como los fosfatos de eritrosa (4C), xilulosa (5C), fructosa (6C) y sedoheptulosa (7C), y que llevan a la síntesis de ribulosa-fosfato, que al fosforilarse con consumo de ATP se convierte por último en la RuDP.*

Las moléculas de PGAl así formadas pueden convertirse fácilmente en las de su isómero, el **fosfato de dihidroxiacetona (PDHA)**, y ambas pueden seguir diferentes caminos, pero buena parte del conjunto se encaminarán a regenerar la RuDP con la que se inició el ciclo. Esta ***regeneración*** tiene lugar a través de complejas rutas en las que se forman azúcares-fosfato con cadenas de 4, 5, 6 y 7 átomos de carbono, como los fosfatos de eritrosa (4C), xilulosa (5C), fructosa (6C) y sedoheptulosa (7C), y que llevan a la síntesis de ribulosa-fosfato, que al fosforilarse con consumo de ATP se convierte por último en la RuDP (**Figura 1.11**).

Las triosas-fosfato que se forman después de la reducción y no se emplean en la regeneración de la RuDP (PGAl y PDHA), se exportan al citosol, mediante un transportador de la membrana de cloroplasto (**Figura 1.13**) que los intercambia con P_i. Este P_i se emplea en el cloroplasto, principalmente para la obtención de ATP en las reacciones lumínicas de los tilacoides.

Las triosas-fosfato en el citosol dan lugar a la síntesis de **sacarosa**, a través de una serie de reacciones en las que se forman fosfatos de fructosa y de glucosa, y UDP-glucosa; el proceso culmina al unirse la fructosa-fosfato y la UDP-glucosa para dar sacarosa-fosfato, cuya hidrólisis da P_i y sacarosa, la principal forma química de transporte de azúcares en las plantas.

Durante la síntesis de sacarosa se liberan grupos P_i, que al acumularse en el citosol pueden ser intercambiados por más triosas-fosfato del cloroplasto para continuar dicha síntesis. Cuando el ritmo de fijación y reducción de CO_2 es mayor que el de síntesis de sacarosa, la concentración de P_i en el citosol disminuye lo cual limita la exportación de triosas. En estas circunstancias, los fosfatos de triosa que no se exportan se encaminan hacia la síntesis de ***almidón*** en los cloroplastos (**Figura 1.13**). Este proceso pasa por la síntesis de fructosa-fosfato y su transformación en glucosa-fosfato; la glucosa-fosfato a su vez reacciona con ATP para dar ADP-glucosa, compuesto capaz de polimerizarse para dar almidón. El almacenamiento de almidón en los cloroplastos constituye una reserva temporal; por la noche, cuando baja la concentración de triosas, a partir de este almidón se produce glucosa-fosfato y, por último, fosfatos de triosa, que son exportados al citosol para la síntesis nocturna de sacarosa.

Para establecer el balance entre los compuestos que intervienen en el ciclo de Calvin, hasta la obtención de las triosas, conviene analizarlo partiendo de 3 moléculas de RuDP que se carboxilan con 3 CO_2 para dar 6 moléculas de PGAc; estas 6 moléculas se reducen, con el empleo de 6 ATP y 6 NADPH (de los que se recuperan los correspondientes ADP, P_i y $NADP^+$); de las 6 moléculas de PGAl que se obtienen, 5 se emplean en la regeneración que, con consumo de 3 ATP (y recuperación de 3 ADP), produce las 3 RuDP con que se

inició el ciclo de Calvin; la molécula de triosa restante sería el producto neto de este ciclo. Prescindiendo del ATP y el NADPH, el balance de átomos de carbono en juego sería:

$$3\ \text{RuDP (15C)} + 3\ CO_2\ \text{(3C)} \longrightarrow 1\ \text{PGAl (3C)} + 3\ \text{RuDP (15C)}$$

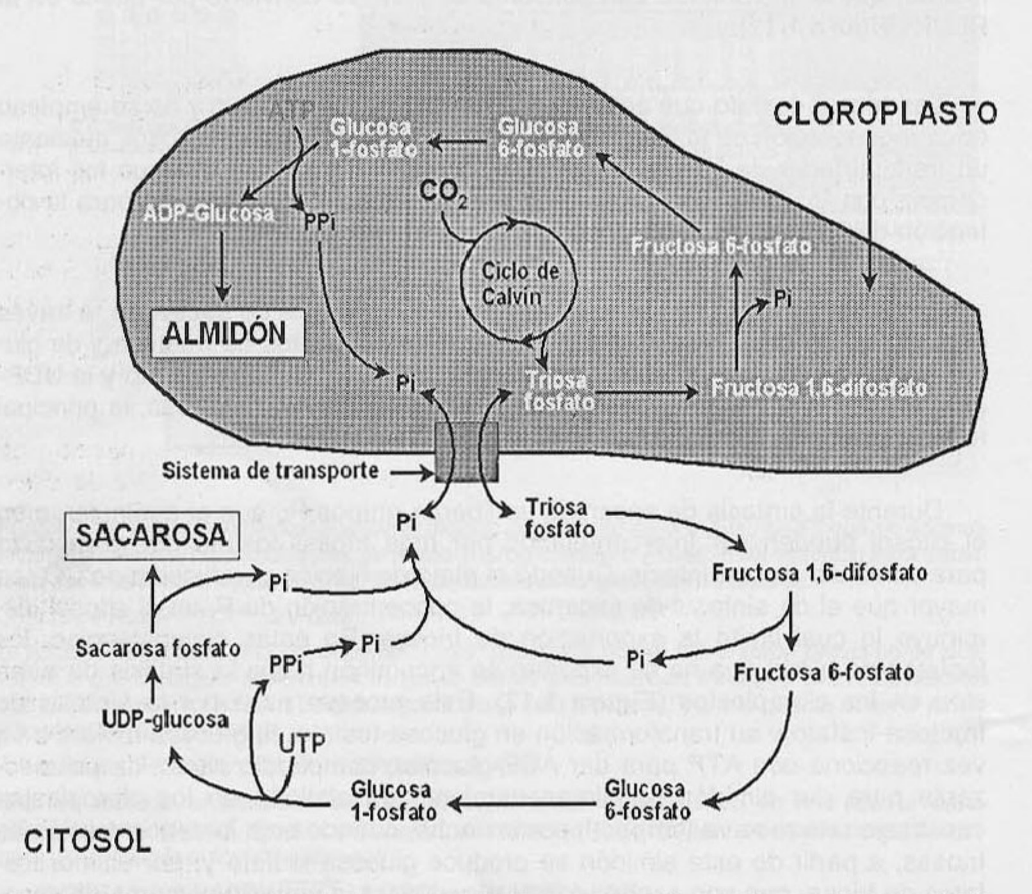


Figura 1.13. Durante la síntesis de sacarosa se liberan grupos P_i, que al acumularse en el citosol pueden ser intercambiados por más triosas-fosfato del cloroplasto para continuar dicha síntesis. Cuando el ritmo de fijación y reducción de CO_2 es mayor que el de síntesis de sacarosa, la concentración de P_i en el citosol disminuye lo cual limita la exportación de triosas. En estas circunstancias, los fosfatos de triosa que no se exportan se encaminan hacia la síntesis de ***almidón*** *en los cloroplastos. Este proceso pasa por la síntesis de fructosa-fosfato y su transformación en glucosa-fosfato; la glucosa-fosfato a su vez reacciona con ATP para dar ADP-glucosa, compuesto capaz de polimerizarse para dar almidón. El almacenamiento de almidón en los cloroplastos constituye una reserva temporal; por la noche, cuando baja la concentración de triosas, a partir de este almidón se produce glucosa-fosfato y, por último, fosfatos de triosa, que son exportados al citosol para la síntesis nocturna de sacarosa*

Seis giros del ciclo, con la introducción de seis moléculas de CO_2, son necesarios para producir el equivalente de un glúcido de seis carbonos (**Figura 1.12**). La ecuación global es la siguiente:

6 RuDP + 6 CO_2 + 12 NADPH + 12 H^+ + 18 ATP ⟶
⟶ 6 RuDP + Glucosa + 12 $NADP^+$ + 18 ADP + 18 P_i + 6 H_2O

1.7. EL PROBLEMA DE LA FOTORRESPIRACIÓN

En presencia de suficiente CO_2, la enzima RuDP carboxilasa oxigenasa introduce el CO_2 dentro del ciclo de Calvin con una gran eficacia (actividad *carboxilasa*). Sin embargo, cuando la concentración de CO_2 en la hoja es muy pequeña comparada con la concentración de oxígeno, la misma enzima cataliza la reacción de la RuDP con el oxígeno (actividad *oxigenasa*), en vez del CO_2. Esta reacción es el primer paso de un proceso conocido como fotorrespiración, por el cual los glúcidos son oxidados a CO_2 y agua en presencia de luz. A diferencia de la respiración mitocondrial, la fotorrespiración es un proceso donde la energía se pierde, y no se produce ni ATP ni NADH. En algunas plantas, cerca del 50 % del carbono fijado en la fotosíntesis puede ser reoxidado a CO_2 durante la fotorrespiración.

El proceso fotorrespiratorio se resume en la **Figura 1.14**. La reacción de una molécula de RuDP (5C) con O_2 produce una de PGAl (3C) y otra de *ácido fosfoglicólico*, que rápidamente es hidrolizado a ***ácido glicólico*** (2C), con pérdida de P_i. El ácido glicólico sale de los cloroplastos y entra en los **peroxisomas** (orgánulos ricos en enzimas oxidativos), donde vuelve a reaccionar con oxígeno para dar ***ácido glioxílico*** y *peróxido de hidrógeno* (H_2O_2); este último compuesto es convertido por la catalasa en agua y O_2. El ácido glioxílico es transformado en *glicina* (2C), un aminoácido que pasa a las **mitocondrias**; en estos orgánulos, dos moléculas (4C) de glicina forman una de *serina* (3C), con liberación de una molécula de CO_2 (1C). La serina vuelve a los peroxisomas y es transformada en ácido glicérico, que pasa a los cloroplastos y allí, por fosforilación con empleo de ATP se convierte en PGAl. De esta manera se recuperan para el ciclo fotosintético 3 de cada 4 átomos de carbono perdidos inicialmente como ácido fosfoglicólico, es decir, 9 de cada 10 desviados en la oxigenación de la RuDP. Pero como un átomo de C ya fijado (ya que la RuDP que se oxigena procede del ciclo de Calvin) se pierde como CO_2, y sin haber producido ATP.

La luz es necesaria para que la fotorrespiración tenga lugar, ya que su sustrato inicial es la RuDP, que se regenera en el ciclo de Calvin con la provisión de ATP y NADPH que se producen en las reacciones luminosas. La abundancia relativa de CO_2 y de O_2 en el cloroplasto, y el resultado de la competencia entre estos gases por la enzima RuBisCO, son los factores determinantes de que la RuDP siga la vía fotosintética o fotorrespiratoria.

Las condiciones que conducen a la fotorrespiración son bastante comunes. El CO_2 no siempre se encuentra disponible para las células fotosintéticas de la planta. Como ya hemos visto, entra en la hoja por los estomas, orificios especializados que se abren y se cierran, dependiendo, entre otros factores de la cantidad de agua. Cuando la planta está sometida a unas condiciones calurosas y secas, debe cerrar sus estomas para evitar la pérdida de agua. Esto provoca también una disminución del CO_2 y permite que el oxígeno producido en la fotosíntesis de acumule.

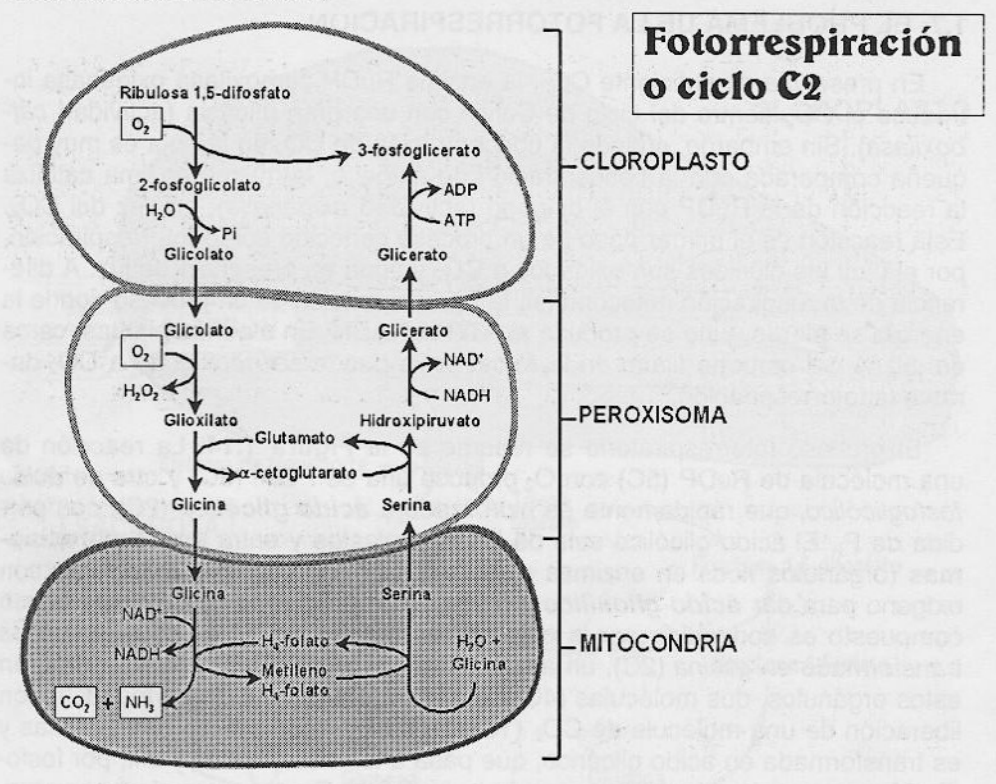


*Figura 1.14. La reacción de una molécula de RuDP (5C) con O_2 produce una de PGAl (3C) y otra de ácido fosfoglicólico, que rápidamente es hidrolizado a **ácido glicólico** (2C), con pérdida de P_i. El ácido glicólico sale de los cloroplastos y entra en los **peroxisomas** (orgánulos ricos en enzimas oxidativos), donde vuelve a reaccionar con oxígeno para dar **ácido glioxílico** y peróxido de hidrógeno (H_2O_2); este último compuesto es convertido por la catalasa en agua y O_2. El ácido glioxílico es transformado en glicina (2C), un aminoácido que pasa a las **mitocondrias**; en estos orgánulos, dos moléculas (4C) de glicina forman una de serina (3C), con liberación de una molécula de CO_2 (1C). La serina vuelve a los peroxisomas y es transformada en ácido glicérico, que pasa a los cloroplastos y allí, por fosforilación con empleo de ATP se convierte en PGAl. De esta manera se recuperan para el ciclo fotosintético 3 de cada 4 átomos de carbono perdidos inicialmente como ácido fosfoglicólico, es decir, 9 de cada 10 desviados en la oxigenación de la RuDP. Pero como un átomo de C ya fijado (ya que la RuDP que se oxigena procede del ciclo de Calvin) se pierde como CO_2, y sin haber producido ATP. (Modificada de **Taiz, L. and Zeiger, E.**, 1998. "Plant Physiology". 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers)*

También sucede que cuando las plantas crecen muy juntas y el aire está muy calmado, el intercambio de gases entre el aire que rodea la hoja y la atmósfera global puede ser muy reducido. En estas condiciones, el aire cercano a las hojas de la planta activa tendrá concentraciones de CO_2 demasiado pequeñas para sus actividades fotosintéticas. Incluso si los estomas están abiertos, el gradiente de concentración entre el exterior de la hoja y el interior será tan poco importante, que muy poco CO_2 se podrá difundir hacia la hoja. La combinación de concentraciones bajas de CO_2 y altas concentraciones de oxígeno conduce a la fotorrespiración.

La RuBisCO tiene una afinidad por el CO_2 mucho mayor que la que presenta por el O_2, pero como la atmósfera está mucho más concentrada en O_2 (21%) que en CO_2 (0.03%), esta ventaja se reduce y la relación entre carboxilación y oxigenación es de aproximadamente 3:1. La solubilidad de los gases disminuye cuando aumenta la temperatura, pero este descenso es más marcado en el CO_2 que en el O_2, por lo que las altas temperaturas (que además afectan al comportamiento de la enzima, aumentando su afinidad por el O_2) favorecen la oxigenación de la RuDP y, por tanto, la vía fotorrespiratoria.

Esta pérdida de carbono fijado, en forma de CO_2 liberado por fotorrespiración, representa un lastre para la planta, ya que consume materia orgánica ya formada sin producir ATP, es decir, deshace parte de lo conseguido en la fotosíntesis.

Es difícil imaginar qué sentido adaptativo pueda tener este proceso. Podría tratarse de un mecanismo que permita disipar excesos de energía de la fase lumínica, potencialmente nocivos, que pueden acumularse en ciertas condiciones. Es posible, por otra parte que se trate de una vía relíctica heredada de tiempos geológicos en los que la relación CO_2/O_2 de la atmósfera era mayor que la actual. En cualquier caso, el papel de la fotorrespiración sigue sin conocerse con certeza.

1.8. UNA SOLUCIÓN: OTRAS VÍAS DE FIJACIÓN DEL CO_2

El problema de la fotorrespiración queda resuelto en algunas plantas mediante una ruta alternativa de fijación del carbono. En estos casos, la anulación de la vía fotorrespiratoria tiene lugar mediante un mecanismo de fijación de CO_2 previo al ciclo de Calvin que, combinado con ciertas peculiaridades bioquímicas, anatómicas y fisiológicas de estas plantas, logra aumentar la concentración de CO_2 en las inmediaciones de la enzima RuBisCO y así desplazar fuertemente la actividad de esta enzima hacia la carboxilación. En estas plantas, el primer paso de la fijación de carbono es la unión del dióxido de carbono a una molécula llamada ***ácido fosfoenolpirúvico*** (**PEP**), formando un ácido de cuatro carbonos llamado ***ácido oxalacético***. Hay dos grupos de plantas que utilizan esta alternativa, las ***plantas C_4*** y las ***plantas CAM***. Las restantes especies, en las que el CO_2 se fija para formar el compuesto de tres carbonos llamado ácido fosfoglicérico (PGA), se conocen como plantas C_3.

1.8.1. LAS PLANTAS C_4

Las plantas C_4 presentan una anatomía foliar peculiar, conocida como anatomía de tipo ***Kranz*** o en ***corona***. En el corte transversal de estas hojas (**Figura 1.15**) se observan dos tipos de células fotosintéticas: unas grandes, que rodean a los haces conductores (a modo de "corona") formando una *vaina*, y las restantes que ocupan el *mesófilo*, menores y dispuestas por lo general más o menos radialmente alrededor de la vaina.

En las plantas C_4 las reacciones previas al ciclo de Calvin constituyen la llamada ***vía de Hatch y Slack***, que se resume en las **Figuras 1.16** y **1.17**. La fijación del CO_2 tiene lugar, en primer término de forma transitoria, en el citosol de las células del mesófilo, donde la enzima ***PEP carboxilasa*** lo une al ácido fosfoenolpirúvico (PEP), de tres átomos de carbono. De esta carboxilación se obtiene, como primer producto de fijación del CO_2, un ácido dicarboxílico de cuatro carbonos, el ácido oxalacético (**Figura 1.18**).

El oxalacético es luego transformado en otro ácido de 4C que será transportado, vía plasmodesmos, a las células de la vaina. En algunas plantas C_4 esta transformación es una reducción, que tiene lugar en los cloroplastos del mesófilo, y de la que se obtiene *ácido málico*; en otras se trata de una transaminación que ocurre en el citosol y de la que se obtiene *ácido aspártico*.

El málico entra a los cloroplastos de la vaina y allí es descarboxilado a *ácido pirúvico*. El aspártico es reconvertido a oxalacético en las células de la vaina, ya sea en mitocondrias (en ciertas especies) o en el citosol (en otras plantas); el oxalacético es reducido a málico y descarboxilado a pirúvico. En todos los casos la decarboxilación *libera CO_2 en la vaina*, que puede entrar al ciclo de Calvin al ser fijado por la enzima RuBisCO; el ácido pirúvico que queda es transportado nuevamente al mesófilo donde, previa fosforilación, podrá reiniciar el ciclo.

Por tanto, el CO_2 que fija la enzima RuBisCO y entra al ciclo de Calvin no procede directamente y entra al ciclo de Calvin no procede directamente de la atmósfera, sino que ha sido fijado transitoriamente en el mesófilo y vuelto a liberar en las células de la vaina. Esta compartimentalización (fijación inicial del CO_2 en el mesófilo, ciclo de Calvin en la vaina) permite un mejor aprovechamiento del CO_2 ya que:

1. La enzima PEP carboxilasa tiene una enorme afinidad por el CO_2, y por otra parte, no tiene actividad oxigenasa, por lo que el O_2 no interfiere en la fijación.

2. El CO_2 captado en el mesófilo y liberado en la vaina resulta mucho más concentrado en ésta que en el tejido fotosintético de las plantas C_3, de manera que compite mejor con el O_2 y se favorece así la actuación como carboxilasa de la RuBisCO.

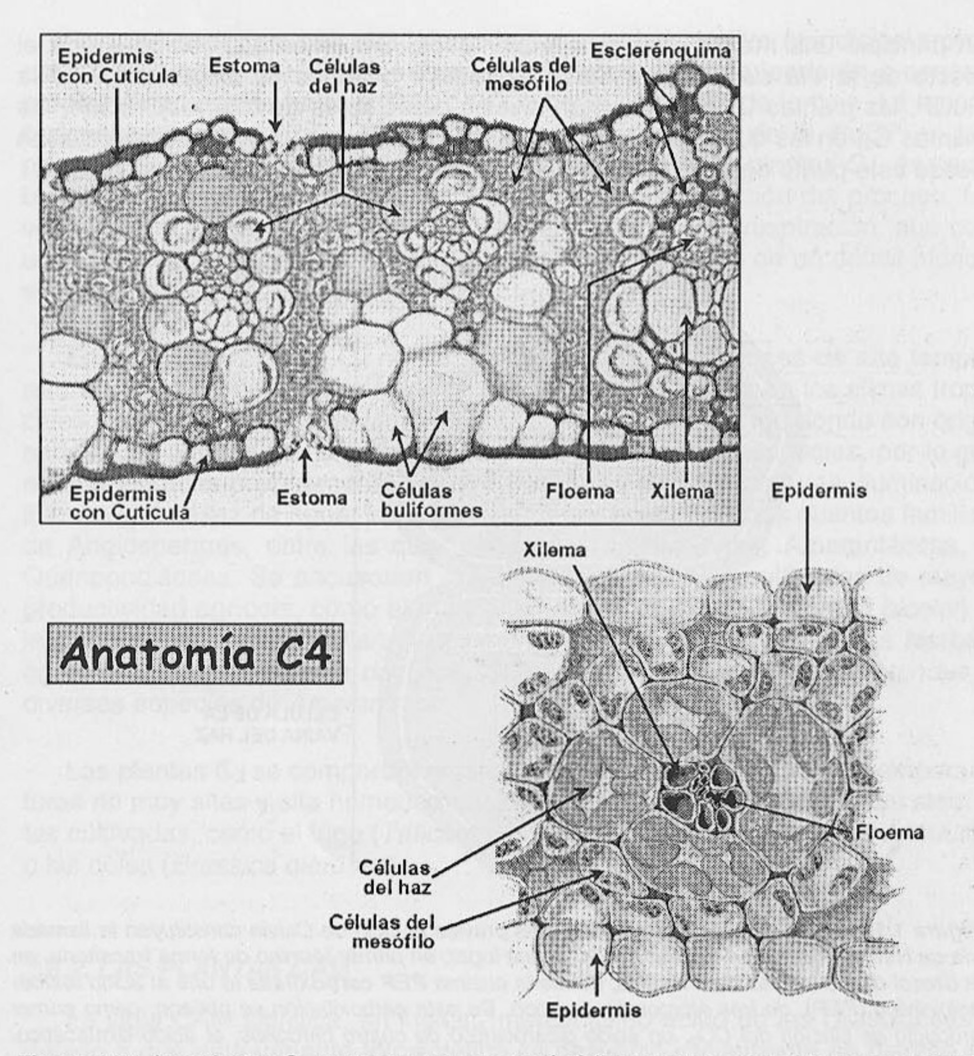


Figura 1.15. Las plantas C_4 presentan una anatomía foliar peculiar, conocida como anatomía de tipo Kranz o en corona. En el corte transversal de estas se observan dos tipos de células fotosintéticas: unas grandes, que rodean a los haces conductores (a modo de "corona") formando una vaina, y las restantes que ocupan el mesófilo, menores y dispuestas por lo general más o menos radialmente alrededor de la vaina. (Modificada de ***Rawn, J.D.*** *1989. "Bioquímica". Vol. 1. Interamericana.McGraw-Hill y de* ***Raven, P.H., Evert, R. and Eichhorn, S.E.****, 1999. "Biology of Plants". 6th ed., W.H. Freeman and Company Worth Pub.)*

El mecanismo de bombeo de CO_2 hacia la vaina tiene un costo energético ya que por cada molécula de CO_2 que se transporta del mesófilo al ciclo de Calvin se hidrolizan 2 ATP. Las plantas C_4, por tanto, emplean 5 ATP para fijar y reducir a carbohidrato una molécula de CO_2, mientras que en las plantas C_3 sólo se necesitan los 3 ATP del ciclo de Calvin. Por su mayor necesidad de energía en forma de ATP por molécula de CO_2 fijado, las plantas C_4 tendrían

en principio una menor eficiencia fotosintética. Sin embargo, debido a que el efecto de la *vía de Hatch y Slack* es reducir o anular la oxigenación de la RuDP, las plantas C_4 no presentan niveles detectables de fotorrespiración; las plantas C_3, en las que parte del CO_2 fijado se pierde por fotorrespiración, serían desde este punto de vista las que tendrían una menor eficiencia fotosintética.

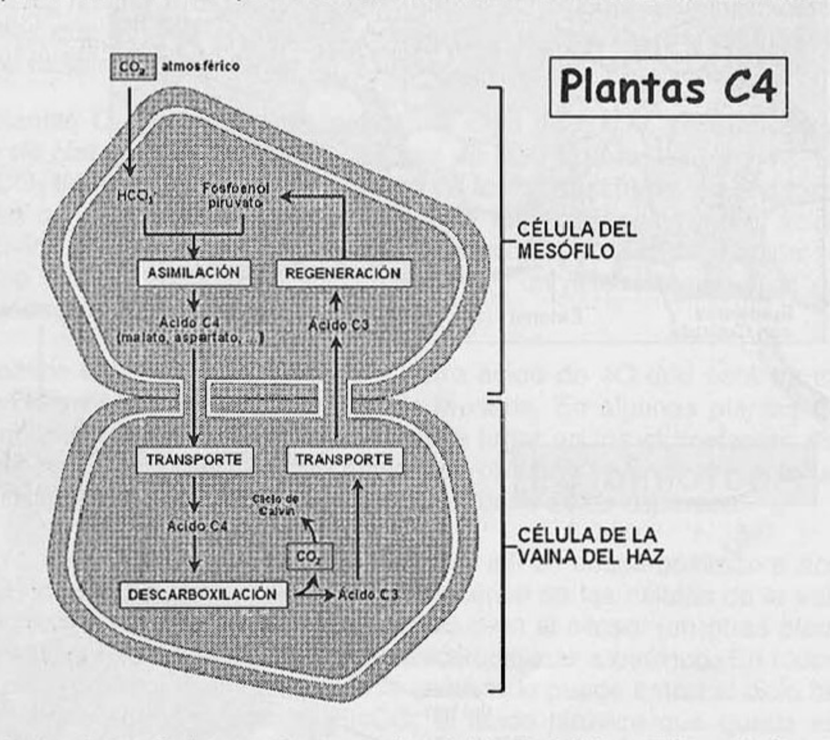


***Figura 1.16.** En las plantas C_4 las reacciones previas al ciclo de Calvin constituyen la llamada **vía de Hatch y Slack**. La fijación del CO_2 tiene lugar, en primer término de forma transitoria, en el citosol de las células del mesófilo, donde la enzima **PEP carboxilasa** lo une al ácido fosfoenolpirúvico (PEP), de tres átomos de carbono. De esta carboxilación se obtiene, como primer producto de fijación del CO_2, un ácido dicarboxílico de cuatro carbonos, el ácido oxalacético. Este ácido es transportado a las células de la vaina donde se descarboxila y se convierte en ácido pirúvico. El CO_2 liberado entra en el ciclo de Calvin al ser fijado por la enzima RuBisCO; el ácido pirúvico es transportado nuevamente al mesófilo donde, previa fosforilación, podrá reiniciar el ciclo. (Modificada de **Taiz, L. and Zeiger, E.**, 1998. "Plant Physiology". 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers)*

La clave de esta aparente contradicción radica en las condiciones ambientales en las que tiene lugar la fotosíntesis, especialmente la temperatura. La ventaja de las plantas C_3 (su ahorro de ATP) se pierde en condiciones de alta temperatura, que favorecen la oxigenación de la RuDP y por tanto las pérdidas por fotorrespiración; con temperaturas elevadas, en general a partir de 30ºC, la eficiencia en el uso fotosintético de la luz de las plantas C_4 es mayor que la de las C_3.

Por otra parte, en una atmósfera de baja unidad relativa (condición provocada o favorecida por las altas temperaturas), los estomas tenderán a cerrase parcialmente, obstruyendo el flujo de CO_2 hacia el interior de la hoja. La menor concentración interna de CO_2 favorecerá la oxigenación de la RuDP en las plantas C_3, cuya eficiencia fotosintética disminuirá. En las plantas C_4, en cambio, la fijación vía PEP carboxilasa y la compartimentalización del proceso, favorecen una eficaz captura del CO_2 sin pérdidas por fotorrespiración, aun con una baja concentración interna de CO_2 derivada del efecto de un déficit hídrico sobre el comportamiento estomático.

En suma, las plantas C_4 se ven favorecidas en condiciones de alta temperatura y baha humedad relativa, que son las predominantes en los climas tropicales y subtropicales, relativamente áridos, de las regiones de donde son originarias. Las plantas C_4 constituyen un grupo importante de especies, por lo general adaptadas precisamente a ambientes con altas temperaturas, iluminación intensa y escasez de agua; las especies C_4 pertenecen a unas cuantas familias de Angiospermas, entre las que destacan las Gramíneas, Amarantáceas, y Quenopodiáceas. Se encuentran entre ellas las especies cultivadas de mayor productividad agrícola, como el maíz (*Zea mays*), el sorgo (*Sorghum bicolor*) o la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), y algunas de las malas hierbas agresivas, como *Cynodon dactylon*, *Sorghum halepense*, *Cyperus rotundus* y diversas especies de *Amaranthus*.

Las plantas C_3 se comportan más eficazmente en condiciones de temperaturas no muy altas y alta humedad relativa. Son C_3 la mayor parte de las plantas cultivadas, como el trigo (*Triticum aestivum*), el girasol (*Helianthus annuus*) o las coles (*Brassica oleracea*).

1.8.2. LAS PLANTAS CAM

La sigla CAM significa, en inglés, "metabolismo ácido de las Crasuláceas", debido a que esta variante fotosintética se describió inicialmente en plantas de esta familia. Actualmente se conoce un buen número de especies CAM, pertenecientes a diversas familias de plantas crasas o suculentas: Crassulaceae, Cactaceae, Euphorbiaceae, Aizoaceae, etc. La piña (*Ananas comosus*), perteneciente a la familia Bromeliaceae, presenta este tipo de metabolismo.

Se trata en general de plantas originarias desérticas o subdesérticas, sometidas a intensa iluminación, altas temperaturas y pronunciados déficit hídricos, adaptadas a condiciones de aridez bastante extremas. En estas plantas el tejido fotosintético es homogéneo, sin vaina diferenciada, ni tampoco clorénquima en empalizada. Pero sus estomas muestran un peculiar comportamiento ya que, al contrario de los de las demás plantas, se abren de noche y se cierran de día.

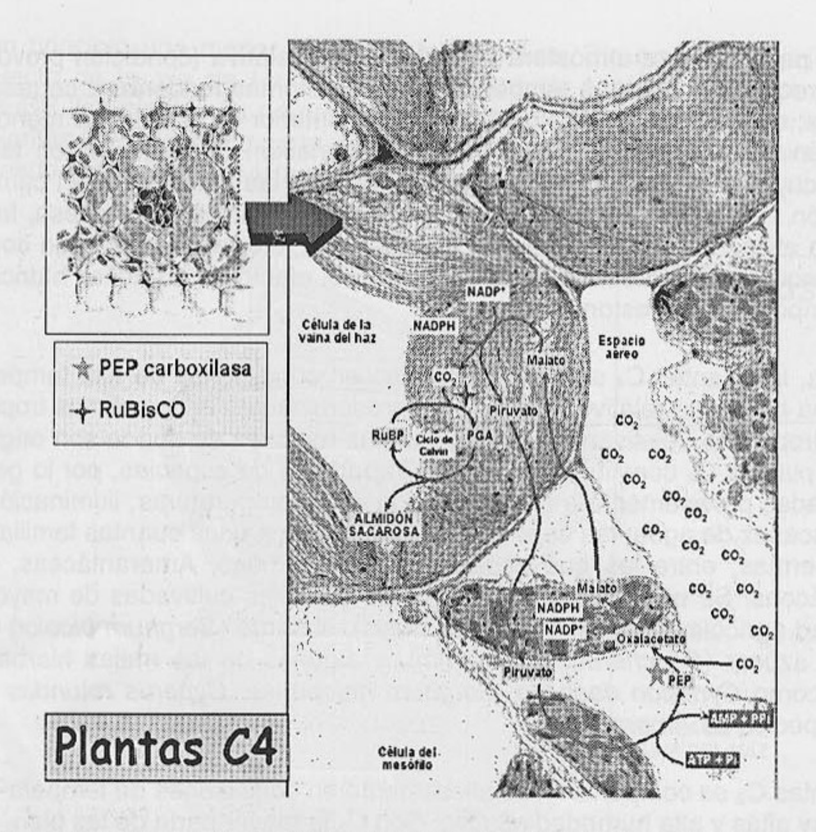


Figura 1.17. Micrografía electrónica de la hoja de una planta de maíz (Zea mays). En primer lugar, el CO_2 es fijado en las células del mesófilo en forma de oxalacetato, el cual se convierte rápidamente en malato. Este, a continuación, es transportado a las células de la vaina vascular, donde se libera el CO_2. Este CO_2 liberado entra entonces en el ciclo de Calvin, formando en última instancia almidón y sacarosa. El piruvato vuelve a las células del mesófilo para su regeneración a fosfoenolpiruvato (PEP). (Modificada de ***Raven, P.H., Evert, R. and Eichhorn, S.E.****, 1999. "Biology of Plants". 6^{th} ed., W.H. Freeman and Company Worth Pub.)*

El metabolismo de las plantas CAM presenta también unas reacciones previas al ciclo de Calvin, similares a las de las plantas C_4, y se verifica asimismo una compartimentalización, pero no espacial (ya que el clorénquima es uniforme) sino temporal: las reacciones del ciclo de Calvin ocurren de día, con los estomas cerrados, mientras que las reacciones previas tienen lugar de noche, con los estomas abiertos (**Figura 1.19**).

Durante la noche, los estomas abiertos permiten la fijación del CO_2 atmosférico por el PEP carboxilasa en el citosol; el PEP sobre el que actúa esta enzima procede de la degradación del almidón, acumulado en los cloroplastos durante el día. De la carboxilación del PEP se obtiene ácido oxalacético, que luego es reducido a málico. El ácido málico no se transporta a otras células sino que se acumula en la vacuola de la misma célula (**Figura 1.19**).

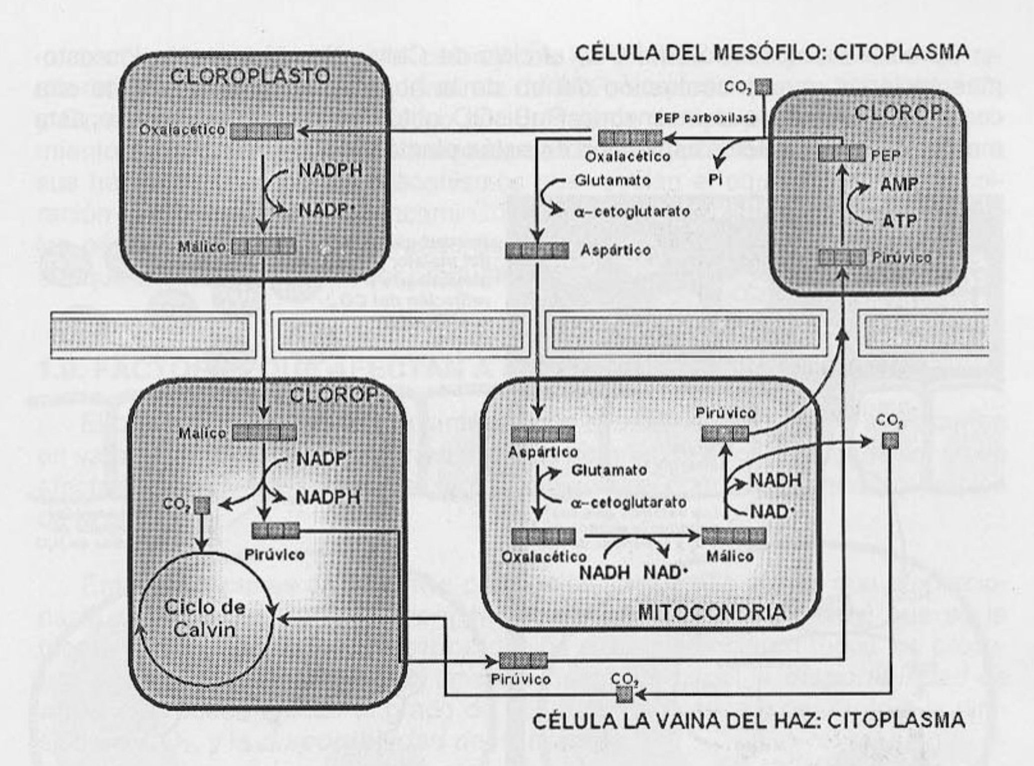


Figura 1.18. *En las plantas C_4, la fijación del CO_2 tiene lugar, en primer término de forma transitoria, en el citosol de las células del mesófilo, donde la enzima* ***PEP carboxilasa*** *lo une al ácido fosfoenolpirúvico (PEP), de tres átomos de carbono. De esta carboxilación se obtiene, como primer producto de fijación del CO_2, un ácido dicarboxílico de cuatro carbonos, el ácido oxalacético. El oxalacético es luego transformado en otro ácido de 4C que será transportado, vía plasmodesmos, a las células de la vaina. En algunas plantas C_4 esta transformación es una reducción, que tiene lugar en los cloroplastos del mesófilo, y de la que se obtiene ácido málico; en otras se trata de una transaminación que ocurre en el citosol y de la que se obtiene ácido aspártico. El málico entra a los cloroplastos de la vaina y allí es descarboxilado a ácido pirúvico. El aspártico es reconvertido a oxalacético en las células de la vaina, ya sea en mitocondrias (en ciertas especies) o en el citosol (en otras plantas); el oxalacético es reducido a málico y descarboxilado a pirúvico. En todos los casos la decarboxilación libera CO_2 en la vaina, que puede entrar al ciclo de Calvin al ser fijado por la enzima RuBisCO; el ácido pirúvico que queda es transportado nuevamente al mesófilo donde, previa fosforilación, podrá reiniciar el ciclo. . (Modificada de* ***Pérez García, F. y Martínez-Laborde, J.B.****, 1994. "Introducción a la Fisiología Vegetal". Ed. Mundi-Prensa)*

Durante el día, con los estomas cerrados, el málico sale de la vacuola y se descarboxila a pirúvico; en esta reacción se libera CO_2, que entra a los cloroplastos para iniciar allí en ciclo de Calvin. El ácido pirúvico es transformado en PEP, que luego pasa a fosfato de triosa; las triosas en los cloroplastos dan lugar a la síntesis y acumulación de almidón, a partir del cual se regenerará el PEP durante la noche **(Figura 1.19)**.

Como la incorporación del CO_2 al ciclo de Calvin tiene lugar con los estomas cerrados, su concentración dentro de la hoja es lo suficientemente alta como para impedir que la enzima RuBisCO actúe como oxigenasa. De esta manera se anula la fotorrespiración en estas plantas.

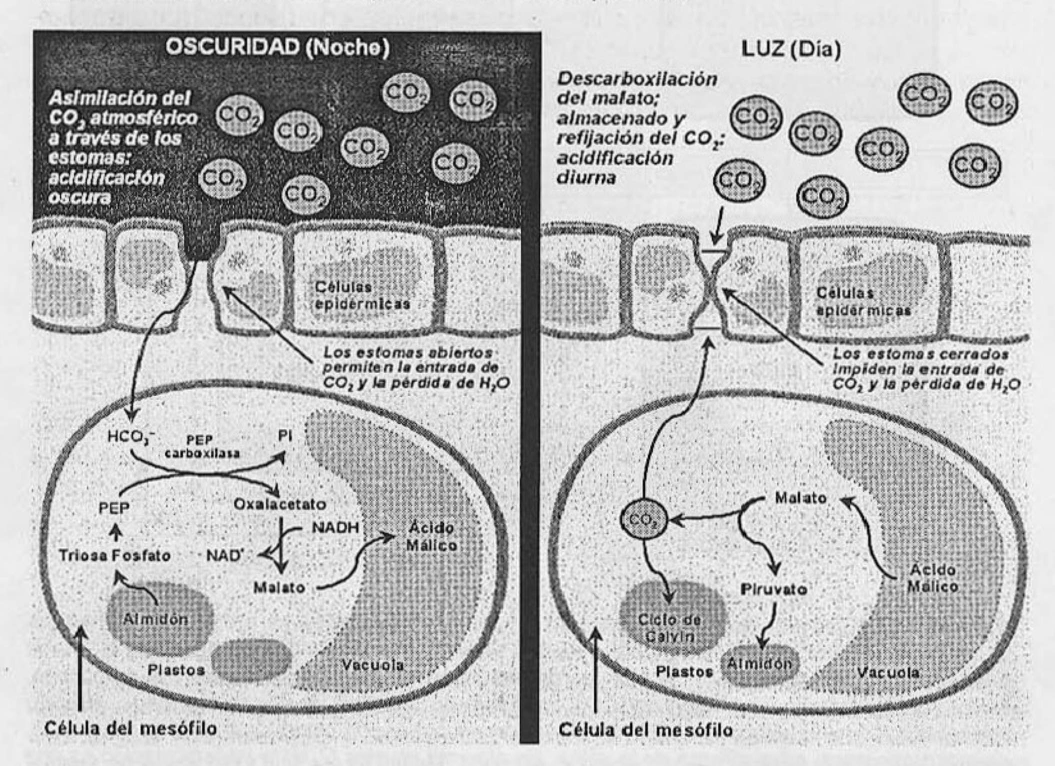


Figura 1.19. *Fijación del CO_2 en las plantas CAM. Esquema de la izquierda: durante la noche, los estomas abiertos permiten la fijación del CO_2 atmosférico por el PEP carboxilasa en el citosol; el PEP sobre el que actúa esta enzima procede de la degradación del almidón, acumulado en los cloroplastos durante el día. De la carboxilación del PEP se obtiene ácido oxalacético, que luego es reducido a málico. El ácido málico no se transporta a otras células sino que se acumula en la vacuola de la misma célula. Esquema de la derecha: durante el día, con los estomas cerrados, el málico sale de la vacuola y se descarboxila a pirúvico; en esta reacción se libera CO_2, que entra a los cloroplastos para iniciar allí en ciclo de Calvin. El ácido pirúvico es transformado en PEP, que luego pasa a fosfato de triosa; las triosas en los cloroplastos dan lugar a la síntesis y acumulación de almidón, a partir del cual se regenerará el PEP durante la noche. (Modificada de* ***Taiz, L. y Zeiger, E.****, 1998. "Plant Physiology". 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers)*

El cierre diurno de los estomas impide las intensas pérdidas de agua por transpiración que sufrirían estas plantas con la elevada temperatura y bajísima humedad relativa características de las regiones áridas y desérticas de las que son originarias. La apertura estomática y la entrada del CO_2 a la hoja, en cambio, tienen lugar de noche, cuando la temperatura es menor, la humedad es mayor y las pérdidas de agua por transpiración son bajas.

La fijación y reducción del carbono en las plantas CAM presenta unos requerimientos energéticos, en términos de ATP, mayores que en las plantas C_3 y C_4; su rendimiento fotosintético por unidad de tiempo es menor y su crecimiento es más lento. Como consecuencia de la adaptación de estas plantas a sus hábitats extremos, los mecanismos que regulan el equilibrio entre transpiración y fotosíntesis están encaminados fuertemente hacia la minimización de las pérdidas de agua, asegurando así la supervivencia en el medio desértico, aunque a costa de una menor productividad.

1.9. FACTORES QUE AFECTAN A LA FOTOSÍNTESIS

El complejo proceso de fotosíntesis, con sus numerosos pasos que ocurren en varias etapas y tienen lugar en distintos compartimentos estructurales, se ve afectado por diversos factores, tanto ambientales como endógenos o propios de la planta.

Entre los factores ambientales principales se cuentan la ***luz***, que proporciona la energía necesaria; la ***concentración atmosférica de*** CO_2, que es la fuente de carbono; la ***temperatura***, debido a su influencia en todos los procesos enzimáticos y metabólicos; también juegan un papel la ***disponibilidad de agua***, que puede afectar al grado de apertura estomática y por tanto a la difusión del CO_2, y la ***disponibilidad de nutrientes***.

Los factores endógenos son las características propias del vegetal (estructurales, bioquímicas, etc.) que influyen en cualquiera de los procesos parciales de la fotosíntesis, y resultan de la interacción entre el genotipo y el ambiente en el que se ha desarrollado la planta. El síndrome de caracteres anatómicos, bioquímicos y fisiológicos que determinan que una especie sea C_3, C_4, o CAM es uno de los principales factores internos que afectan al proceso fotosintético. También influyen en la fotosíntesis la densidad de los estomas y su sensibilidad, la edad de la hoja y el área foliar, entre otros factores.

Tanto los factores internos como los ambientales interaccionan entre sí; a modo de ejemplo, téngase en cuenta que la radiación influye sobre la temperatura del aire, y ésta sobre su humedad relativa y también sobre la difusión del CO_2, mientras que el ácido abscísico afecta al grado de apertura estomática, y ciertas características epidérmicas (pelos, ceras) influyen sobre la proporción de luz absorbida.

Por otra parte, la fotosíntesis está estrechamente relacionada con los procesos metabólicos que consumen moléculas orgánicas, en los que intervienen los gases atmosféricos. Al tiempo que la fotosíntesis consume CO_2 y libera O_2, la fotorrespiración y la respiración mitocondrial consumen O_2 y liberan CO_2; una elevada concentración externa de O_2 favorecerá la fotorrespiración a costa de la fotosíntesis. En consecuencia, cuando se estudia la influencia de ciertos

factores sobre la acumulación de productos de la fotosíntesis a través de los cambios en la concentración de CO_2 en la atmósfera, en realidad se está midiendo la actividad de los tres procesos considerados globalmente y su resultado neto.

Si se considera positiva la acumulación de sustancias orgánicas resultantes de la fotosíntesis, llamadas genéricamente ***fotoasimilados***, y negativa su pérdida, puede definirse el intercambio neto de carbono con el ambiente como:

$$FN = FB - (FR + RM)$$

donde FB, o *fotosíntesis bruta*, representa la cantidad total de fotoasimilados producida, FR representa la cantidad consumida por *fotorrespiración* y RM representa las pérdidas debidas a *respiración mitocondrial.* El balance puede expresarse como la cantidad de fotoasimilados resultante de ganancias y pérdidas o *fotosíntesis neta* (FN).

La fotosíntesis neta resulta un índice adecuado para estudiar el efecto de algunos factores ambientales importantes sobre la acumulación de materia orgánica de la planta, y pro tanto sobre el aumento del peso seco, directamente relacionado con el crecimiento.

1.9.1. ILUMINACIÓN Y FOTOSÍNTESIS NETA

En la **Figura 1.20** se han representado los valores de FN que se obtienen con valores crecientes de iluminación, dejando constantes los restantes factores.

Cuando el nivel de iluminación es muy bajo o nulo, se registran valores de FN negativos, ya que con escasa luz la FB se interrumpirá (lo mismo de la FR), pero la RM no se verá afectada. El valor de iluminación señalado como I_0, es el ***punto de compensación lumínica*** y representa la cantidad de luz con la cual FN vale cero, debido a que FB se iguala a FR + RM. Para valores de iluminación mayores que I_0, FN será siempre positiva.

La porción rectilínea en su conjunto corresponde al rango de valores de iluminación en los que este factor se comporta como limitante del proceso: los demás factores se encuentran en exceso (relativo) y sólo se puede incrementar FN aumentando la iluminación. La región curvilínea corresponde a una situación de interacciones complejas, en las que varios factores actúan como limitantes. En la región plana FN permanece constante y el sistema está saturado de luz: algún otro factor que está limitando el proceso.

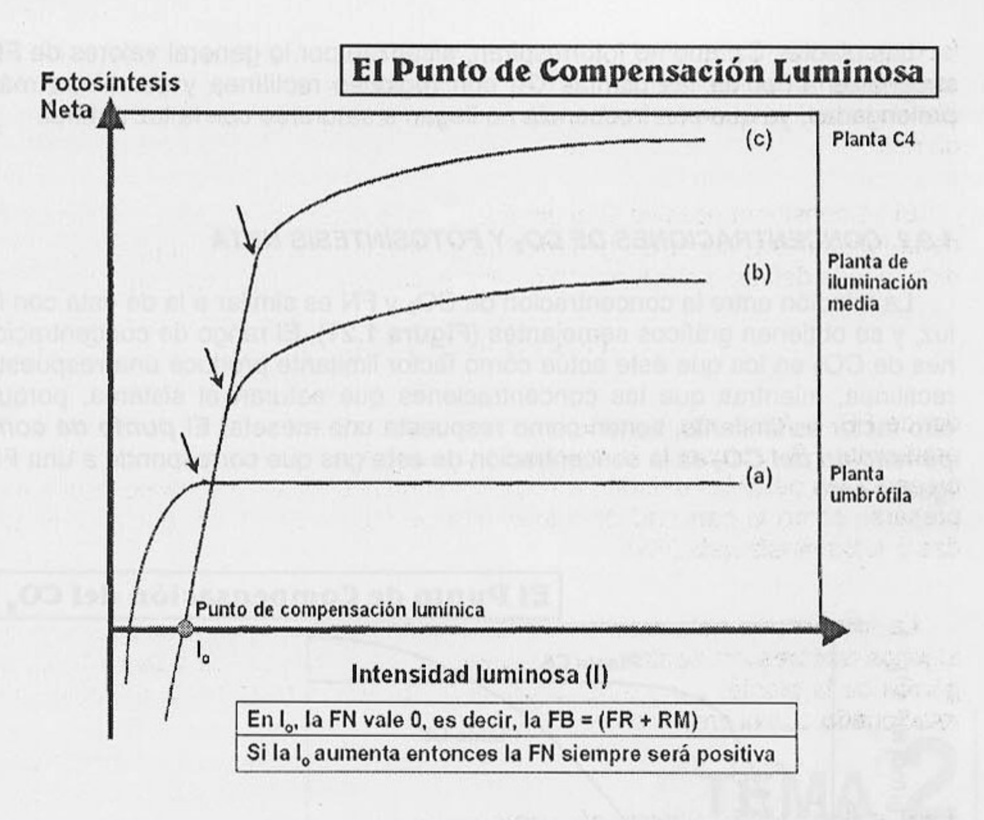


***Figura 1.20.** Respuesta de la fotosíntesis neta (FN) frente a la iluminación (I), de una planta umbrófila (a), una planta adaptada a condiciones de iluminación media (b), y de una planta C_4 (c). Cuando el nivel de iluminación es muy bajo o nulo, se registran valores de FN negativos, ya que con escasa luz la FB se interrumpirá (lo mismo de la FR), pero la RM no se verá afectada. El valor de iluminación señalado como **I_0**, es el **punto de compensación lumínica** y representa la cantidad de luz con la cual FN vale cero, debido a que FB se iguala a FR + RM. Para valores de iluminación mayores que I_0, FN será siempre positiva. (Modificada de **Mauseth, J.D.**, 1998. "Botany. An Introduction to Plant Biology". 2nd ed. Jones and Bartlett Pub.)*

Si se aumenta el valor de alguno de los factores que permanecían constantes (por ejemplo, si se duplica la concentración de CO_2 en el aire), se obtiene una curva similar y en parte superpuesta a la anterior, pero de porción rectilínea más prolongada y con una meseta más alta. Es decir, cuando otro factor es más abundante, se prolonga el rango en el que la luz es limitante, y se alcanzan máximos mayores.

Cuando se compara el comportamiento de una planta adaptada a una iluminación media con el de una planta umbrófila (adaptada a condiciones de escasa iluminación), se ve que esta última presenta una curva similar, pero con una porción rectilínea de mayor pendiente, con un I_0 menor y con una meseta más baja. Con escasa iluminación, la planta umbrófila será más eficiente que la heliófila, en términos de FN, pero con luz intensa está relación se invierte.

Las plantas C_4, que no fotorrespiran, alcanzan por lo general valores de FN superiores a los de las plantas C_3, con regiones rectilínea y curvilínea más prolongadas, ya que con frecuencia no llegan a saturarse con la luz natural.

1.9.2. CONCENTRACIONES DE CO_2 Y FOTOSÍNTESIS NETA

La relación entre la concentración de CO_2 y FN es similar a la de ésta con la luz, y se obtienen gráficos semejantes (**Figura 1.21**). El rango de concentraciones de CO_2 en los que éste actúa como factor limitante produce una respuesta rectilínea, mientras que las concentraciones que saturan el sistema, porque otro factor es limitante, tienen como respuesta una meseta. El ***punto de compensación del CO_2*** es la concentración de este gas que corresponde a una FN igual a cero.

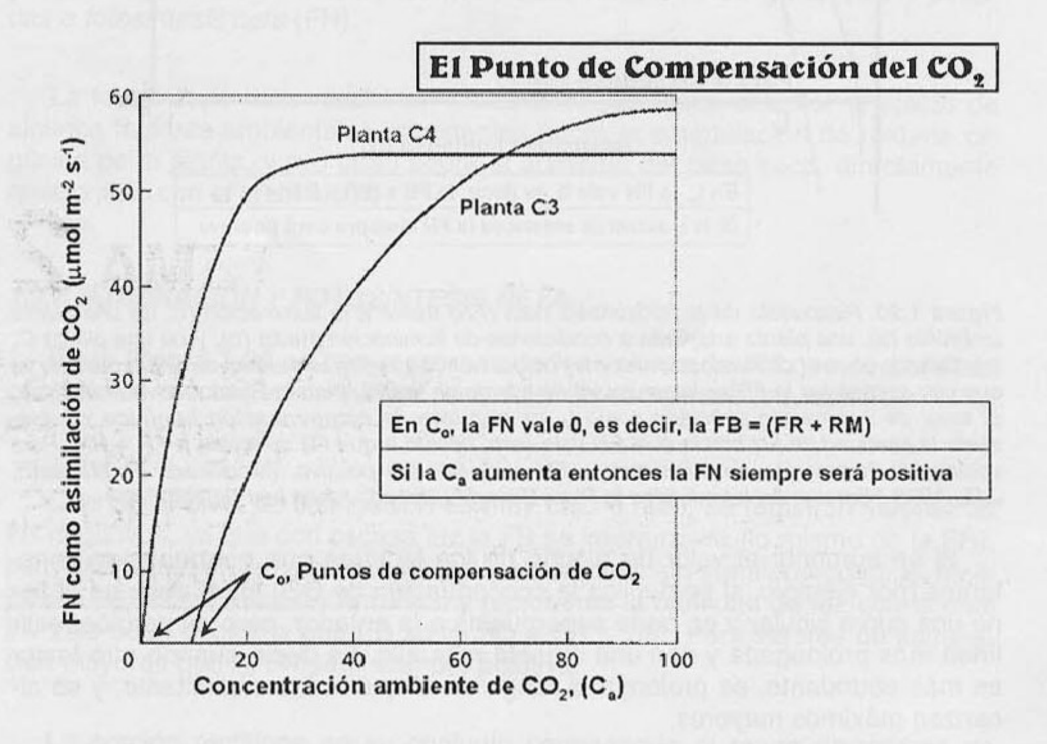


*Figura 1.21. Respuesta de la fotosíntesis neta (FN) frente a la concentración de CO_2, de una planta C_3 y de una planta C_4. El rango de concentraciones de CO_2 en los que éste actúa como factor limitante produce una respuesta rectilínea, mientras que las concentraciones que saturan el sistema, porque otro factor es limitante, tienen como respuesta una meseta. El **punto de compensación del CO_2** es la concentración de este gas que corresponde a una FN igual a cero. (Modificada de **Mauseth, J.D.**, 1998. "Botany. An Introduction to Plant Biology". 2nd ed. Jones and Bartlett Pub.)*

TEMA 2

EL AGUA EN LAS PLANTAS. ABSORCIÓN Y TRANSPORTE DE ELEMENTOS MINERALES. NUTRICIÓN MINERAL.

2.1. EL AGUA

La vida está íntimamente asociada al agua, muy especialmente en su estado líquido y su importancia para los seres vivos es consecuencia de sus propiedades físicas y químicas exclusivas.

El agua es un disolvente para muchas sustancias tales como sales inorgánicas, azúcares y aniones orgánicos, y constituye un medio en el cual tienen lugar todas las reacciones bioquímicas. El agua, en su forma líquida, permite la difusión y el flujo masivo de solutos y, por esta razón, es esencial para el transporte y distribución de nutrientes y metabolitos en toda la planta. También es importante el agua en las vacuolas de las células vegetales, ya que ejerce presión sobre el protoplasma y pared celular, manteniendo así la turgencia en hojas, raíces y otros órganos de la planta.

El agua, que es el componente mayoritario en la planta (80-90% del peso fresco en plantas herbáceas y más del 50% de las partes leñosas) afecta, directa o indirectamente, a la mayoría de los procesos fisiológicos.

Una planta necesita mucha más agua que un animal de peso comparable. En un animal, la mayor parte del agua se retiene en su cuerpo y continuamente se recicla. En cambio, más del 90% del agua que entra por el sistema de raíces se desprende al aire en forma de vapor de agua. Esta pérdida de agua en forma de vapor recibe el nombre de **transpiración**.

La transpiración es una consecuencia necesaria al estar los estomas abiertos para que la planta capte el dióxido de carbono necesario para la fotosíntesis, aunque el precio que paga la planta es alto. Por ejemplo, una sóla planata de maíz necesita entre 160-200 litros de agua para crecer desde la semilla hasta que se cosecha, y 1 ha de terreno sembrada con maíz consume casi 5 millones de litros de agua por estación. El ecólogo inglésH. L. Harper describe la planta terrestre como" una mecha que conecta el agua del suelo con la atmósfera".

En este tema trataremos especialmente el movimiento del agua y los minerales por el xilema.

2.1.1. POTENCIAL HÍDRICO

La cantidad de agua presente en un sistema (planta) es una medida útil del estado hídrico de la planta, pero no permite determinar el sentido de los intercambios entre las distintas partes de una planta, ni entre el suelo y la planta.

El agua en estado líquido es un fluido, cuyas moléculas se hallan en constante movimiento. La movilidad de estas moléculas dependerá de su energía libre, es decir de la fracción de la energía total que puede transformarse en

trabajo. La magnitud más empleada para expresar y medir su estado de energía libre es el **potencial hídrico** (Ψ). El Ψ se mide en atmósferas, bares, pascales y megapascales, siendo 0,987 atm = 1 bar = 0,1 Mpa. A una masa de agua pura, libre, sin interacciones con otros cuerpos, y a presión normal, le corresponde un Ψ igual a 0.

El Ψ está fundamentalmente determinado por la presión y por la actividad del agua. Esta última depende, a su vez, del efecto osmótico, presencia de solutos, y del efecto matricial, interacción con matrices sólidas o coloidales.

El Ψ se puede expresar en función de sus componentes:

$$\Psi = \Psi p + \Psi o + \Psi m$$

El **Ψp**, potencial de presión, es nulo a presión atmosférica, positivo para sobre presiones por encima de la atmosférica, y negativo en condiciones de tensión o vacío.

El **Ψo**, potencial osmótico, representa la disminución de la capacidad de desplazamiento del agua debido a la presencia de solutos. A medida que la concentración de soluto (es decir, el número de partículas de soluto por unidad de volumen de la disolución) aumenta, el Ψo se hace más negativo. Sin la presencia de otros factores que alteren el potencial hídrico, las moléculas de agua de las disoluciones se moverán desde lugares con poca concentración de solutos a lugares con mayor concentración de soluto. El Ψo se considera 0 para el agua pura.

El **Ψm**, potencial matricial, representa el grado de retención del agua, debido a las interacciones con matrices sólidas o coloidales, puede valer cero, si no hay interacciones, o ser negativo.

Es necesario tener presente la influencia de la temperatura, que se ha omitido por considerarla constante, pero que por supuesto afecta al Ψ. Un aumento de temperatura tiene un efecto positivo sobre el Ψ, y una reducción de la temperatura tiende a disminuirlo.

2.1.1.1. El potencial hídrico y el movimiento del agua

El concepto de potencial hídrico es de gran utilidad puesto que permite predecir cómo se moverá el agua bajo diversas condiciones.

El agua se mueve de forma espontánea desde una zona de potencial hídrico grande a una zona con el potencial menor, independientemente de la causa que provoque esta diferencia (**Figura 2.1**). Un ejemplo sencillo es el agua que

baja por una pendiente en respuesta a la gravedad. El agua arriba de la pendiente tiene más energía potencial que debajo de la pendiente. La presión es otra forma de potencial hídrico. Si llenamos un cuentagotas con agua y apretamos el gotero, el agua saldrá. En las disoluciones, el potencial hídrico está afectado por la concentración de las partículas en disolución (solutos). Si aumenta la concentración de soluto, el potencial hídrico disminuye. Inversamente, cuando la disolución disminuye de concentración, el potencial hídrico aumenta.

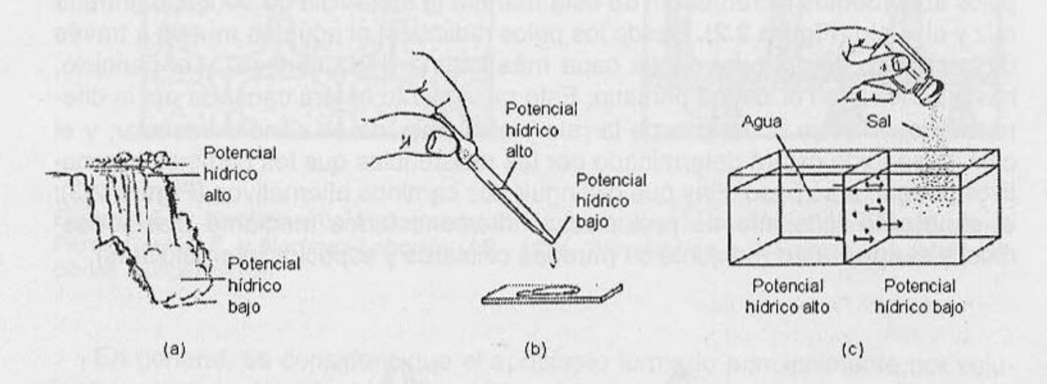


Figura 2.1. *Los tres factores que normalmente determinan el potencial hídrico son (a) la gravedad, (b) la presión, y (c) la concentración de solutos en una disolución. El agua se mueve desde la región con mayor potencial hídrico a la región con menor potencial hídrico, sea cual sea la causa de esta diferencia de potencial. (Modificada de* ***Curtis, H., y Barnes, N.****, 1997. "Invitación a la Biología". 5ª ed. Ed. Panamericana.)*

Cuando dos masas de agua tienen diferente potencial hídrico, habrá una tendencia del agua a desplazarse espontáneamente desde el lugar con mayor potencial hacia el lugar con menor potencial. Si en el camino no hay barreras este desplazamiento se realizará sin aporte externo de energía. Es decir, los movimientos o flujos de agua, se producirán de manera espontánea a favor de gradiente de potencial hídrico, desde los lugares de mayor Ψ a los lugares de menor Ψ. El flujo de agua será directamente proporcional a la diferencia de potencial hídrico pero también dependerá de las resistencias que encuentre en su recorrido, ante varios caminos posibles, el flujo se dirigirá mayoritariamente a través de las zonas de menor resistencia.

2.1.2. LA ABSORCIÓN DE AGUA

La absorción de agua consiste en su desplazamiento desde el suelo hasta la raíz, y es la primera etapa del flujo hídrico en sistema continuo suelo-planta-atmósfera. Se producirá de modo espontáneo si Ψ en la raíz es menor que Ψ suelo.

2.1.2.1. Trayectoria del agua en la raíz

El sistema radical sirve para sujetar la planta al suelo y, sobre todo, para encontrar las grandes cantidades de agua que la planta requiere.

El agua entra en la mayoría de las plantas por las raíces, especialmente por los pelos radicales, situados unos milímetros por encima de la caliptra. Estos pelos, largos y delgados poseen una elevada relación superficie/volumen y, pueden introducirse a través de los poros del suelo de muy pequeño diámetro. Los pelos absorbentes incrementan de esta manera la superficie de contacto entre la raíz y el suelo (**Figura 2.2**). Desde los pelos radicales, el agua se mueve a través de la corteza, la endodermis (la capa más interna de la corteza) y el periciclo, hasta penetrar en el xilema primario. Este movimiento estará causado por la diferencia de Ψ entre la corteza de la raíz y el xilema de su cilindro vascular, y el camino seguido estará determinado por las resistencias que los caminos alternativos pongan a su paso. Hay que distinguir dos caminos alternativos (**Figura 2.3**): el **simplasto** (conjunto de protoplastos interconectados mediante plasmodesmos) y el **apoplasto** (conjunto de paredes celulares y espacios intercelulares).

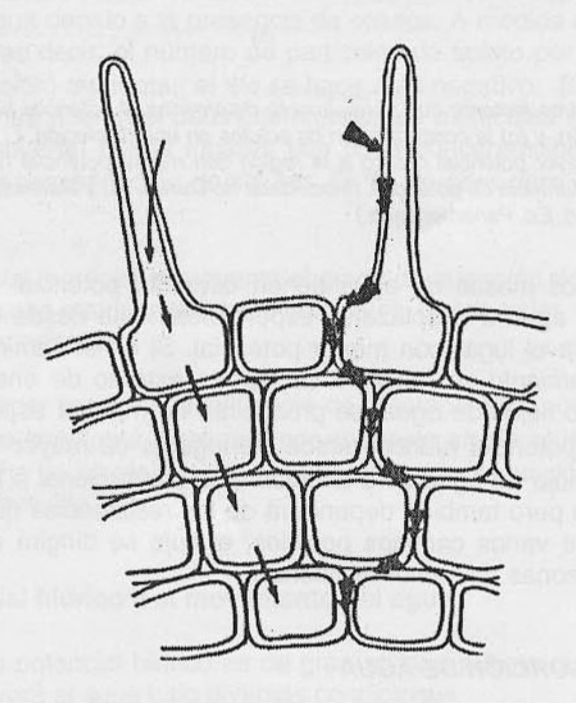
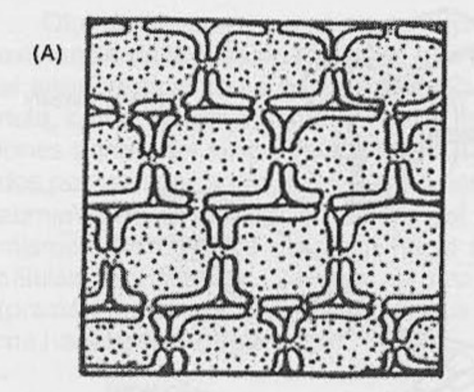


*Figura 2.2. Sección transversal de una raíz, mostrando los pelos absorbentes y los caminos posibles para el agua (flechas), la mayor parte del agua transcurre por paredes y espacios intercelulares (flechas gruesas). (Figura modificada de **Pérez García, F. y Martínez-Laborde., J.B.**, 1994. "Introducción a la Fisiología Vegetal". Ediciones Mundi-Prensa)*

(A) 

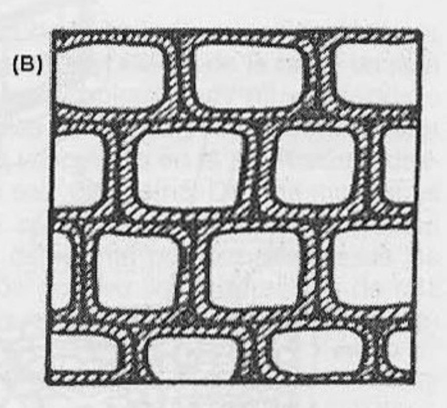
(B) 

***Figura 2.3.** A: simplasto (región punteada); B: apoplasto (región rayada). (Figura modificada de **Pérez García, F. y Martínez-Laborde, J.B.**, 1994. "Introducción a la Fisiología Vegetal". Ediciones Mundi-Prensa)*

En general, se considera que el apoplasto formado principálmente por celulosa y otras sustancias hidrófilas, presenta una menor resistencia al paso de agua que el simplasto, en el que abundan lípidos, sustancias hidrófobas, orgánulos y partículas que aumentan la viscosidad del medio. El camino que siguen el agua y los solutos en la planta puede ser apoplástico o simplástico, o una combinación de ambos. Pero se piensa que el agua discurre en la raíz mayoritariamente por el apoplasto mojando paredes y espacios intercelulares.

2.1.2.2. El papel de la endodermis

La endodermis es la capa más interna de la corteza y se caracteriza porque sus células se disponen de forma compacta no dejando espacios intercelulares y, por la presencia de la banda de Caspary (depósitos de suberina) en sus paredes celulares anticlinales y radiales (**Figura 2.4**).

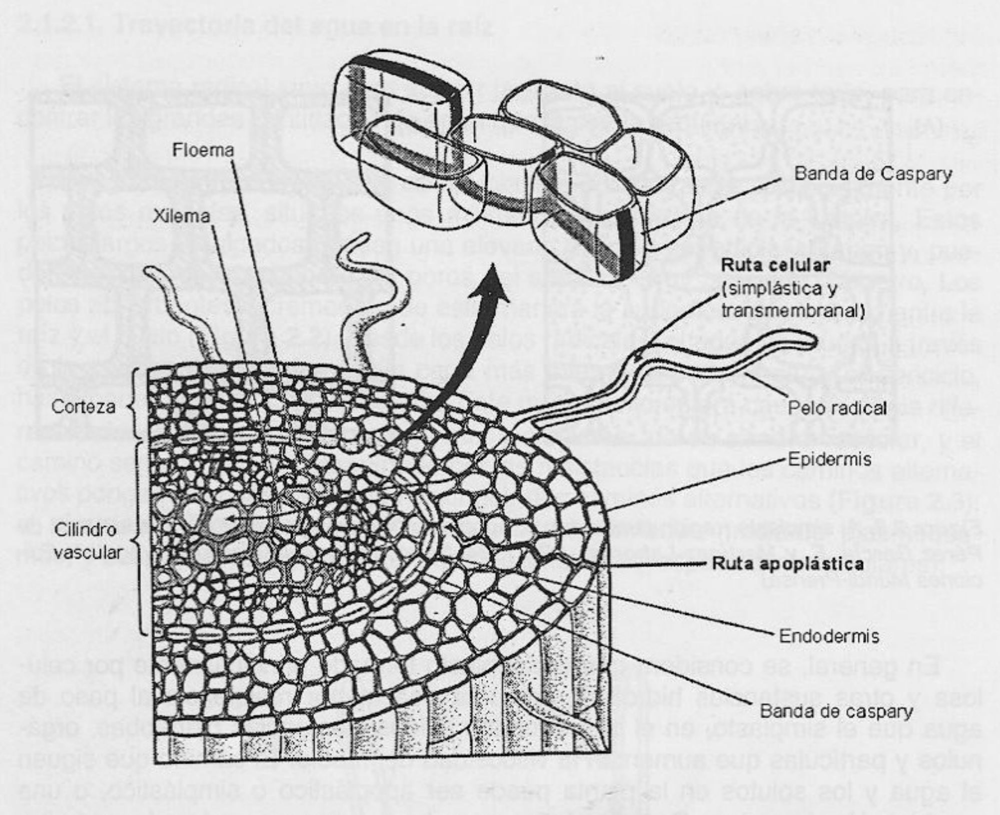


***Figura 2.4.** Sección transversal de una raíz mostrando la corteza y la endodermis. Puede observarse la banda de Caspary en las células endodérmicas. (Figura modificada de **Taiz, L. and Zeiger, E.**, 1998, "Plant Phisiology". 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers).*

Debido a la presencia de la banda de Caspary la vía apoplástica en la endodermis presenta una resistencia muy alta, y el flujo de agua a través de estas paredes es prácticamente nulo. La suberificación de la endodermis bloquea la vía apoplástica, y en este punto el agua es forzada a atravesar las membranas citoplasmáticas y los protoplastos de las células endodérmicas, que representa una resistencia de cierta magnitud, pero mucho menor a la resistencia de las paredes. Una vez superada la endodermis, el agua vuelve a encontrar menor resistencia en la vía apoplástica.

Por lo tanto, el flujo de agua hasta el cilindro central se verá influido por la resistencia del simplasto y, de las membranas que deba atravesar, resistencia que puede aumentar si la estructura, la fluidez y funcionalidad de las membranas no son las adecuadas. Debido a que el correcto funcionamiento de las membranas requiere ATP, cualquier factor que afecte negativamente a la respiración (anaerobiosis, bajas temperaturas), afectará al flujo de agua.

2.1.2.3. La presión radical

Otra de las consecuencias de la presencia de la endodermis en la raíz es la existencia de la presión radicular, que se genera en el xilema de la raíz y empuja el agua verticalmente hacia arriba. Cuando la transpiración es muy reducida o nula, como ocurre durante la noche, las células de la raíz pueden aún secretar iones dentro del xilema. Dado que los tejidos vasculares en la raíz están rodeados por la endodermis, los iones no tienden a salir del xilema. De esta manera, el aumento de concentración dentro del xilema causa una disminución del Ψ del mismo, y el agua se desplaza hacia dentro del xilema por ósmosis, desde las células circundantes. Se crea así una presión positiva llamada presión de raíz (presión radicular), que fuerza al agua y a los iones disueltos a subir por el xilema hacia arriba (**Figura 2.5**).

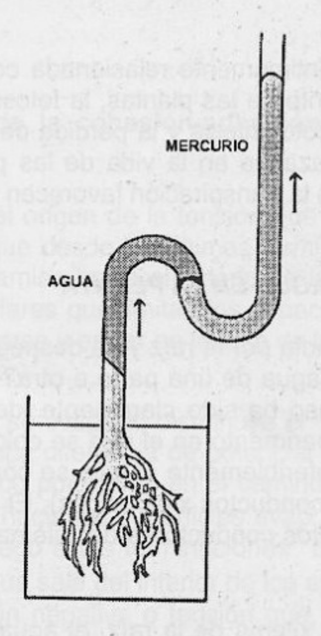


Figura 2.5. *Demostración de la presión radical en el tocón de una planta. La absorción de agua por las raíces hace que el mercurio suba por la columna. Se han medido presiones de 3-5 bares con este método. (Figura modificada de* ***Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E.****, 1999. "Biology of Plants". 6th ed., W.H. Freeman and Company).*

Las gotas de agua similares al rocío que aparecen a primeras horas de la mañana, en plantas de pequeño porte ponen de manifiesto la existencia de la presión radicular. Estas gotas no son rocío sino que proceden del interior de la hoja, este fenómeno lo conocemos con el nombre de gutación (del latín "gutta", gota).

La presión radicular es menos efectiva durante el día, cuando el movimiento de agua a través de la planta es más rápido, debido a la transpiración. Esta presión no es suficiente para llevar el agua hasta la parte más alta de un árbol de gran porte, más aún, algunas plantas como las confieras no desarrollan presión de raíz. Por lo que su presencia no está generalizada y su intensidad, variable según las especies, suele ser baja.

2.2. LA TRANSPIRACIÓN

2.2.1. DEFINICIÓN

Se entiende por transpiración la pérdida de agua, en forma de vapor, a través de las distintas partes de la planta, si bien se realiza fundamentalmente por las hojas.

La transpiración esta íntimamente relacionada con una función de vital importancia para el crecimiento de las plantas, la fotosíntesis. La absorción de dióxido de carbono para la fotosíntesis y la pérdida de agua por transpiración están inseparablemente enlazadas en la vida de las plantas verdes, y todas las condiciones que favorecen la transpiración favorecen la fotosíntesis.

2.2.2. EL ASCENSO DEL AGUA EN LA PLANTA

El agua entra en la planta por la raíz y es despedida en grandes cantidades por la hoja. ¿Cómo va el agua de una parte a otra?. El camino general que sigue el agua en su ascenso ha sido claramente identificado, y puede evidenciarse con un sencillo experimento en el que se coloca un tallo cortado en una solución de colorante (preferiblemente el tallo se corta bajo el agua para evitar la entrada de aire en los conductos xilemáticos). El colorante delinea de forma bastante clara los elementos conductores del xilema hasta las últimas terminaciones foliares.

Una vez alcanzado el xilema de la raíz, el agua con iones y moléculas disueltas asciende por los lúmenes de tráqueas y traqueidas, y se distribuye por ramas y hojas hasta las últimas terminaciones de xilema inmersas en el tejido foliar.

El xilema es un tejido especialmente adaptado para el transporte ascendente del agua a lo largo de la planta, ya que además de recorrerla en toda su longitud, sus elementos conductores, dispuestos en hileras longitudinales, carecen de protoplasma vivo en su madurez; de esta forma los elementos se convierten en los sucesivos tramos de conductos más o menos continuos por los que el agua circula como en una tubería de una casa.

Los elementos conductores que componen el xilema son las traqueidas, que poseen punteaduras en sus paredes, y las tráqueas o elementos de los vasos, que están separados entre sí por perforaciones, los elementos de los vasos se disponen uno detrás de otro formando los vasos. Las punteaduras oponen mayor resistencia al agua que asciende, que las perforaciones de las tráqueas. Por lo que el flujo de agua es mayor en las tráqueas, y aumenta con el diámetro y la longitud de los elementos conductores. Las paredes de tráqueas y traqueidas son superficies que atraen el agua de forma muy efectiva.

En condiciones de transpiración intensa el agua en el xilema está bajo tensión, es decir, sometida a una presión negativa. El efecto de vacío causado por la tensión tendería a colapsar los conductos de xilema. Sin embargo, las paredes secundarias, gruesas y lignificadas, de las tráqueas y traqueidas resisten la tensión.

2.2.2.1. El mecanismo de la cohesión-adhesión-tensión, o transpiración tirón

Para poder entender el origen de la tensión que se genera en el xilema, es preciso tener en cuenta que desde las últimas terminaciones xilemáticas de las hojas, el agua sigue su camino hacia el exterior, a través del parénquima hasta alcanzar las paredes celulares que limitan los espacios intercelulares del mesófilo, para entonces evaporarse y entrar en la fase de transpiración.

A medida que el agua se evapora, disminuye el Ψ de las paredes evaporantes, estableciéndose así una diferencia de potencial hídrico entre estas paredes y las que se sitúan un poco por detrás en el camino descrito, lo que genera un desplazamiento del agua hacia las superficies evaporantes, y la caída del Ψ se transmite al mesófilo y luego a las terminaciones del xilema foliar. A favor de este gradiente de Ψ, el agua sale del interior de los elementos xilemáticos, generando en ellos una presión negativa o tensión que, se transmite a lo largo del xilema, provocando el ascenso de la columna de agua, y provocando la caída del Ψ en el xilema de la raíz. Es así como, mientras haya transpiración el Ψ de la raíz se mantendrá más bajo que en el suelo y la absorción de agua se producirá espontáneamente. Además, es físicamente imprescindible que la columna de agua se mantenga continua, para que la tensión del xilema se transmita hasta la raíz. La columna de agua se mantiene unida gracias a las potentes fuerzas de cohesión que atraen entre sí a las moléculas de agua. Por otra parte las fuerzas de adhesión de las moléculas de agua a las paredes de las traqueidas y los vasos son tan importantes, como la cohesión y la tensión, para el ascenso del agua.

Debido a que el ascenso del agua en la planta, fundamentalmente, se explica sobre la base de la tensión que se genera en el xilema, y a las fuerzas de cohesión y adhesión de las moléculas de agua, el modelo adoptado se conoce como mecanismo de la cohesión-adhesión-tensión (**Figura 2.6**).

2.2.2.2. Las columnas de agua se pueden romper (cavitación y embolia)

A pesar de las fuerzas de cohesión de las moléculas de agua, las columnas de agua se pueden romper (cavitar), esto es debido a que los gases disueltos en el agua, bajo tensiones extremas tienden a escapar formando burbujas (**Figura 2.7**). Las burbujas pueden interrumpir la columna líquida y bloquear la conducción (embolia). El agua del vaso bloqueado puede moverse entonces lateralmente hacia otro vaso contiguo y continuar así su camino. Los gases de la burbuja pueden redisolverse si aumenta la presión en el xilema, bien por disminución de la tensión, bien por presión radical (durante la noche).

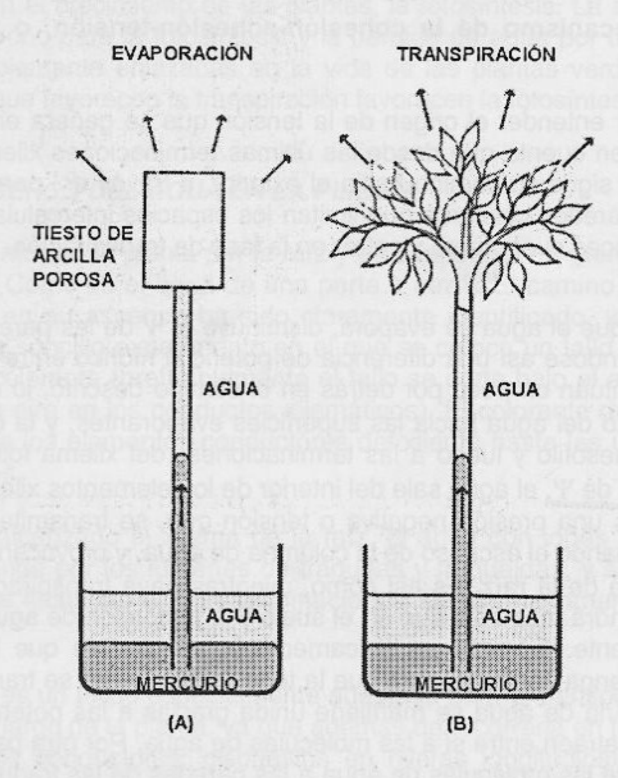


*Figura 2.6. A: Modelo simplificado que demuestra la teoría de la cohesión-adhesión-tensión. B: La transpiración por las hojas es suficiente para crear una presión negativa. (Figura modificada de **Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E.,** 1999. "Biology of Plants". 6th ed., W.H. Freeman and Company).*

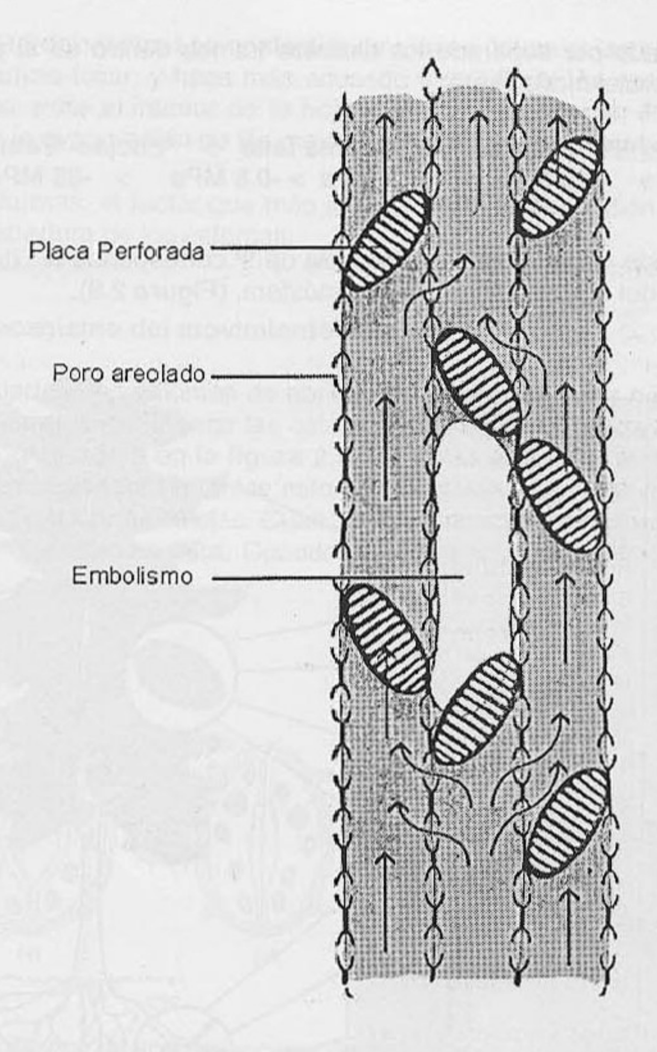


*Figura 2.7. Las columnas de agua se pueden romper, debido a que los gases disueltos bajo tensiones extremas tienden a escapar formando burbujas. Las burbujas pueden bloquear la conducción. (Figura modificada de **Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E.**, 1999. "Biology of Plants". 6th ed., W.H. Freeman and Company).*

2.2.3. MECANISMO DE LA TRANSPIRACIÓN

Como ya se ha visto, el movimiento del agua en el sistema suelo-planta-atmósfera obedece a diferencias de potencial. Es decir.

Ψsuelo > Ψplanta > Ψatmósfera

Considerando por separado los distintos tramos dentro de la planta el gradiente de potencial hídrico será:

Ψsuelo > Ψxilema raíz > Ψxilema tallo > Ψhoja > Ψatmósfera
- 0,5 MPa > -0,6 MPa > -0,8 MPa > -0.8 MPa > -95 MPa

Como puede verse la mayor diferencia de Ψ corresponde al último tramo, es decir, al paso del agua de la hoja a la atmósfera. (**Figura 2.8**).

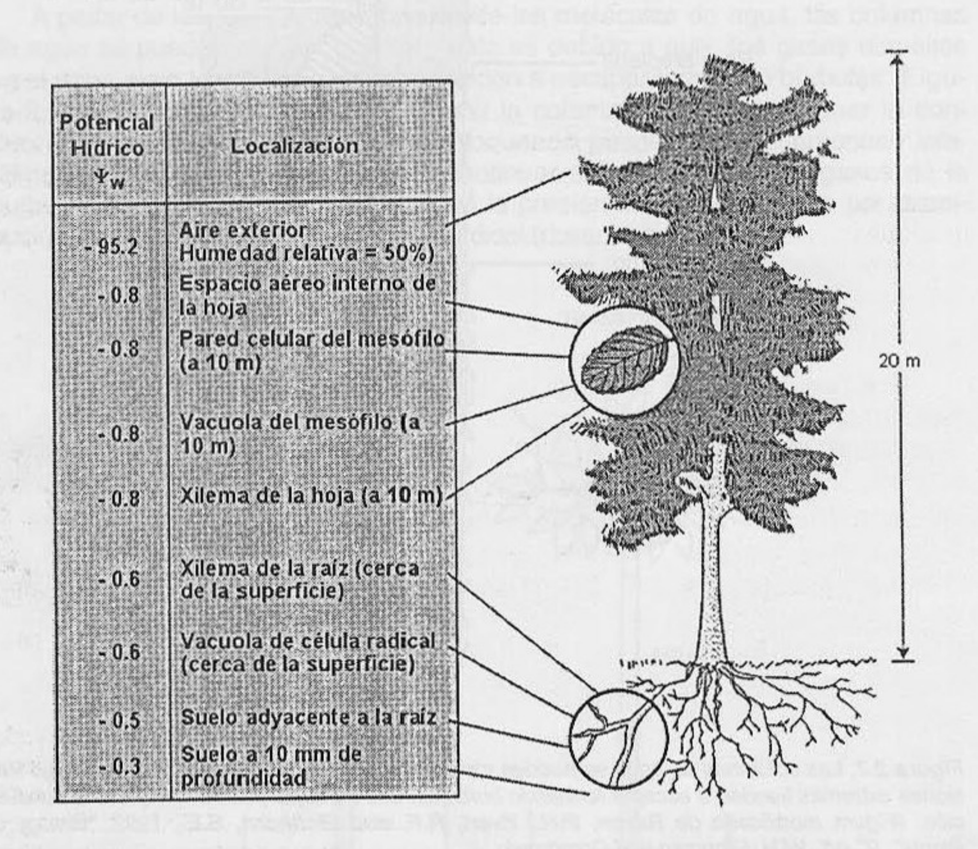


***Figura 2.8.** Representación del potencial hídrico en los diferentes puntos en el camino seguido por el agua desde el suelo a la atmósfera a través de la planta. (Figura modificada de **Taiz, L. and Zeiger, E.**, 1998, "Plant Phisiology". 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers).*

El Ψ atmósfera estará determinado por:

La HR del aire, que a su vez depende de la temperatura, de modo que las situaciones de atmósfera cálida y seca determinarán valores de Ψ atmósfera muy bajos y elevados flujos transpiratorios.

La velocidad del viento. Las corrientes de aire se llevan el vapor de agua que rodea la superficie foliar, y hace más acusado el gradiente de concentración de vapor de agua entre el interior de la hoja y el aire circundante. Por lo tanto, el viento acelera la evaporación de las moléculas de agua del interior de la hoja.

De todas formas, el factor que más influye en la transpiración (flujo transpiratorio) es la abertura de los estomas.

2.2.3.1. El mecanismo del movimiento estomático

La capacidad de los estomas de abrirse o cerrarse, se basa en las deformaciones que pueden experimentar las células oclusivas de acuerdo con su contenido hídrico. Como se ve en la **figura 2.9**, cada estoma tiene dos células estomáticas oclusivas. Los movimientos estomáticos están provocados por los cambios de turgencia de estas células. Cuando las células oclusivas están turgentes, se arquean, y el orificio se abre. Cuando pierden agua, se vuelven flácidas y el poro se cierra.

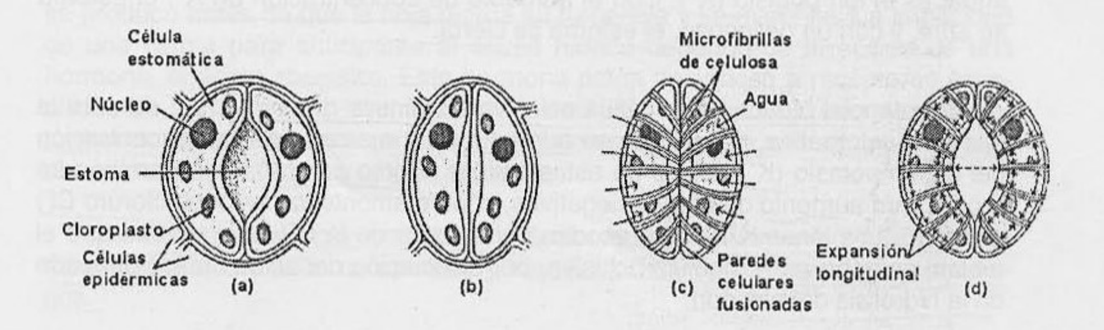


Figura 2.9. Mecanismo de apertura y cierre de los estomas. Un estoma está delimitado por dos células oclusivas que (a) abre el estoma cuando está turgente y (b) lo cierra cuando pierde turgencia. La apertura del estoma como respuesta a la turgencia es debida a la disposición radial de las microfibrillas de celulosa de las células oclusivas (c). Como las dos células están unidas por sus extremos la expansión longitudinal las obliga a curvarse y el estoma se abre (d). (Modificada de ***Curtis, H., y Barnes, N.****, 1997. "Invitación a la Biología". 5ª ed. Ed. Panamericana.)*

Las células oclusivas presentan la peculiaridad de que las microfibrillas de celulosa de la pared están dispuestas radialmente, en forma divergente a partir de la zona que bordea al ostiolo. Además en esta zona la pared suele estar bastante más engrosada que en el resto, y por tanto es más rígida y difícilmente deformable. En situaciones de alto contenido hídrico (ver **Figura 2.9**), la presión

de turgencia del protoplasto tiene efectos diferentes sobre unas y otras áreas de la pared: las exteriores se curvan en mayor medida que las interiores (aquellas que borden al ostiolo); por lo que estas paredes interiores se separan y el ostiolo aumenta su diámetro. En situaciones de bajo contenido hídrico, la flacidez de las células oclusivas las lleva a su forma original y el estoma se cierra.

Cabe preguntarse cuál es la causa de los cambios en el contenido hídrico de las células oclusivas. Para que se produzca la entrada o salida de agua en las células oclusivas debe generarse una diferencia de potencial hídrico.

La turgencia, se mantiene o se pierde mediante la salida o entrada de agua y los movimientos estomáticos resultan de los cambios en la presión de turgencia de las células oclusivas. La acumulación de solutos provoca un movimiento de agua hacia el interior de las células oclusivas. Alternativamente, la disminución de la concentración de solutos en las células oclusivas produce el movimiento del agua hacia el exterior.

Con las técnicas que permiten medir la concentración de iones en las células oclusivas, se sabe que el soluto que más influye en el movimiento osmótico del agua, es el ión potasio (K^+). Con el aumento de concentración de K^+, el estoma se abre, y con un descenso, el estoma se cierra.

El potencial hídrico de la célula oclusiva disminuye debido a que, durante la apertura estomatıca, se verifica un aumento muy marcado de la concentración del catión potasio (K^+) dentro de estas células. Como contrapartida, también se produce un aumento de cargas negativas, concretamente los aniones cloruro Cl^-) y malato. Los iones K^+ v Cl^- proceden del exterior de la célula, mientras que el malato se genera en la célula oclusiva, por disociación del ácido málico derivado de la hidrólisis del almidón.

El agua que entra en las células, debido a la caída de su Ψ, produce un aumento de la presión de turgencia, que causa su deformación y que se traduce en un Ψp creciente. Cuando el Ψp generado llega a compensar la caída anterior derivada de la disminución del Ψo, la entrada de agua cesa. Cuando el estoma se cierra, el K^+ y el Cl^- que habían entrado abandonan la célula, y la concentración de malato disminuye.

La luz estimula la apertura de los estomas, interviene en los mecanismos activos de membrana que expulsan protones (H^+) hacia fuera de la célula oclusiva, permitiendo la entrada de los iones K^+ y Cl^-Además, la luz activa la fotosíntesis en las células del mesófilo; de esta forma se consume CO_2 y la concentración de este gas en los espacios intercelulares y en las células oclusivas se mantiene baja.

El CO_2 influye sobre la apertura estomática en dos formas diferentes: en bajas concentraciones es necesario para la producción de malato, a partir de los productos de hidrólisis del almidón; pero las concentraciones elevadas provocan el cierre de los estomas.

En cuanto a la temperatura, dentro de los intervalos normales (de 10 a 25ºC), ésta no afecta, por lo común, la apertura o cierre de los estomas. Sin embargo, las temperaturas superiores a 35ºC provocan el cierre estomático en bastantes especies. Un aumento de temperatura provoca un aumento de la respiración y, por lo tanto, un aumento de las concentraciones intercelulares de dióxido de carbono. Numerosas especies de climas cálidos cierran sus estomas al mediodía, al parecer, por una combinación de estrés hídrico y el efecto de la temperatura en la concentración de dióxido de carbono.

La apertura estomática se ve afectada además por otros factores. Uno de ellos es el contenido hídrico del suelo y de la planta. Si las pérdidas de agua por transpiración no pueden ser compensadas por la absorción, las células oclusivas pierden la turgencia y el estoma se cierra. Cuando la cantidad de agua de que puede disponer la planta llega a unos niveles críticos (que varían según las especies), los estomas se cierran, limitando, la evaporación del agua restante. Esto se produce antes de que la hoja pierda su turgencia y se marchite. La capacidad de una planta para anticiparse al estrés hídrico depende de la acción de una hormona, el ácido abscísico. Esta hormona actúa uniéndose a receptores específicos de la membrana plasmática de las células oclusivas. El complejo receptor-hormona desencadena un cambio en la membrana que se traduce en la pérdida del soluto (K^+) de las células oclusivas.

Los estomas no solo responden a factores ambientales sino que también muestran ritmos diarios de apertura y cierre, es decir, muestran ritmos circadianos.

En la mayoría de las especies, los estomas se cierran, generalmente, por la tarde cuando la fotosíntesis ya no es posible, y vuelven a abrirse por la mañana, es decir, los estomas están abiertos durante el día y cerrados por la noche. Pero esto no ocurre en todas las plantas, una amplia variedad de plantas crasas o suculentas, como la piña *Ananas comosus*, los cactos y numerosas especies de la familia Crasuláceas (*Sedum*), entre otras, abren sus estomas por la noche, cuando las pérdidas de agua por transpiración son menores. No solamente la temperatura desciende por la noche, sino que además la humedad es normalmente muy superior a la del día. Ambos factores son decisivos para reducir la transpiración. El metabolismo ácido de las Crasuláceas (CAM) característico de estas plantas tiene una ruta para el flujo del carbono que no difiere sustancialmente del de las plantas C4. Por la noche, cuando los estomas están abiertos, las plantas CAM toman dióxido de carbono y lo convierten en ácidos orgánicos. Durante el día, con los estomas cerrados, el dióxido de carbono es liberado de los ácidos orgánicos para ser utilizado en la fotosíntesis.

2.2.3.2. Consecuencias de la transpiración

Cuando los estomas están abiertos la planta pierde agua por transpiración, pero también capta el CO_2 atmosférico, y la fotosíntesis puede tener lugar. La transpiración, podría considerarse como el coste fisiológico de la fotosíntesis, pero hay que tener también en cuenta otras consideraciones.

La evaporación del agua consume una cantidad de energía considerable, debido al elevado calor latente de vaporización de esta sustancia, energía que procede de la energía radiante que la hoja recibe. La transpiración, por tanto, contribuye al balance térmico de la hoja. Si esa fracción de la energía no se gastara de esta manera, aumentaría la temperatura de la hoja, pudiendo llegar a límites incompatibles con la actuación de los sistemas enzimáticos y con la mayoría de los procesos metabólicos.

La transpiración es, además, el mecanismo que origina la tensión en el xilema y el ascenso del agua en la planta. Mecanismo que permite la distribución en toda la planta del agua y de los nutrientes minerales absorbidos por las raíces.

2.3. NUTRICIÓN MINERAL

Si se elimina toda el agua de una planta y se determina luego su peso, la cantidad resultante es el peso seco de la planta, y corresponde a las restantes sustancias, orgánicas e inorgánicas de la planta. Estas sustancias están compuestas por distintos elementos en la siguiente proporción (**Tabla 2.1**).

Elemento	*Símbolo*	*Proporción (en % del peso seco)*
Carbono	C	45,0
Oxígeno	O	45,0
Hidrógeno	H	6,0
Nitrógeno	N	1,5
Potasio	K	1,0
Calcio	Ca	0,5
Magnesio	Mg	0,2
Fósforo	P	0,2
Azufre	S	0,1
Cloro	Cl	0,01
Hierro	Fe	0,01
Manganeso	Mn	0,005
Cinc	Zn	0,002
Boro	B	0,002
Cobre	Cu	0,0006
Molibdeno	Mo	0,00001

Tabla 2.1. *Composición elemental de cada elemento en un tejido vegetal, expresada en porcentaje del peso seco. (Figura tomada de **Pérez García, F. y Martínez-Laborde, J.B.**, 1994. "Introducción a la Fisiología Vegetal". Ediciones Mundi-Prensa)*

Entre el 90-95% del peso seco está constituido por carbono, oxígeno e hidrógeno, que son los principales constituyentes de las sustancias orgánicas que forman el cuerpo vegetal.

El 5-10% restante del peso seco corresponde a otros elementos cuya presencia es esencial para el correcto desarrollo de la planta. Se les llama nutrientes minerales, y entran en la planta, en general, en forma de iones inorgánicos disueltos en el agua que la planta absorbe por las raíces. Algunos se acumulan en la planta en cantidades considerables, son los macronutrientes: nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio, calcio y azufre. Otros se encuentran en cantidades mucho menores, son los micronutrientes: hierro, cobre, cinc, molibdeno, manganeso, boro y cloro. Esta clasificación tiene una validez relativa, ya que en algunos casos algunos macronutrientes se acumulan en cantidades menores que ciertos micronutrientes.

Pueden haber en las plantas otros elementos que solo sean esenciales para algunas especies, o bien que sin ser esenciales puedan reemplazar a algún elemento esencial. También pueden encontrarse otros elementos sin función conocida que la planta los acumula, por su abundancia en el medio (**Tabla 2.2**).

2.3.1. ABSORCIÓN DE NUTRIENTES INORGÁNICOS

La absorción de iones inorgánicos tiene lugar a través de la epidermis de la raíz. El camino principal que siguen los iones desde la epidermis de la raíz a la endodermis es simplástico. El movimiento radial de los iones continua en el simplasto cortical, de protoplasto a protoplasto, vía plasmodesmos a través de la endodermis y se incorporan a las células del parénquima del cilindro vascular. Desde las células del parénquima cortical, los iones son secretados al xilema (vasos o traqueidas) por un mecanismo de transporte activo mediado por transportadores.

2.3.2. ABSORCIÓN ACTIVA DE SOLUTO

Como se puede comprobar la composición mineral de las células de la raíz es muy diferente de la del medio en que crece una planta. En una experiencia realizada en guisante (*Pisum sativum*) se encontró que las células de la raíz tenían una concentración de iones potasio 75 veces mayor que la de la solución nutritiva. En otro estudio se demostró que las vacuolas de las células del nabo (*Brassica napus*) contenían 10000 veces más potasio que la solución nutritiva.

ELEMENTO	FORMA PRINCIPAL EN LA QUE EL ELEMENTO ES ABSORBIDO	CONCENTRACIÓN USUAL EN PLANTAS SANAS (% PESO SECO)	FUNCIONES PRINCIPALES
Macronutrientes:			
Carbono	CO_2	≈ 44 %	Componente de compuestos orgánicos.
Oxígeno	H_2O u O_2	≈ 44 %	Componente de compuestos orgánicos.
Hidrógeno	H_2O	≈ 6 %	Componente de compuestos orgánicos,
Nitrógeno	NO_3^- o NH_4^+	1-4 %	Aminoácidos, proteínas, nucleótidos, ácidos nucleicos, clorofila y coenzimas.
Potasio	K^+	0,5-6 %	Enzimas, aminoácidos, y síntesis de proteínas. Activador de muchas enzimas. Apertura y cierre de estomas.
Calcio	Ca^{2+}	0,2-3,5 %	Calcio de las paredes celulares. Cofactor enzimático. Permeabilidad celular. Componente de la calmodulina, un regulador de la membrana y de las actividades enzimáticas.
Fósforo	$H_2PO_2^-$ o HPO_4^{2-}	0,1-0,8 %	Formación de compuestos fosfatados de "alta energía" (ATP y ADP). Ácidos nucleicos. Fosforilación de azúcares. Varios coenzimas esenciales. Fosfolípidos.
Magnesio	Mg^{2+}	0,1-0,8 %	Parte de la molécula de clorofila. Activador de muchas enzimas.
Azufre	SO_4^{2-}	0,05-1 %	Algunos aminoácidos y proteínas. Coenzima A.
			Micronutrientes:
Hierro	Fe^{2+} o Fe^{3+}	25-300 ppm	Síntesis de clorofila, citocromos y nitrogenasa
Cloro	Cl^-	100-10.000 ppm	Ósmosis y equilibrio iónico, probablemente esencial en reacciones fotosintéticas que producen oxígeno.
Cobre	Cu^{2+}	4-30 ppm	Activador de ciertas enzimas.
Manganeso	Mn^{2+}	15-800 ppm	Activador de ciertas enzimas.
Zinc	Zn^{2+}	15-100 ppm	Activador de muchas enzimas.
Molibdeno	MoO_4^{2-}	0,1-5,9 ppm	Fijación del nitrógeno. Reducción del nitrato.
Boro	BO_3^- o $B_4O_7^{2-}$	5-75 ppm	Influye en la utilización del calcio.
Elementos esenciales para algunas plantas u organismos:			
Cobalto	Co^{2+}	Trazas	Requerido por microorganismos que fijan el nitrógeno.
Sodio	Na^+	Trazas	Equilibrio osmótico y iónico, probablemente no es esencial para muchas plantas. Requerido por algunas especies del desierto y marismas. Puede ser necesario en todas las plantas que utilizan fotosíntesis C4.

***Tabla 2.2.** Resumen de las funciones más importantes de los nutrientes inorgánicos en las plantas. (Tabla tomada de **Taiz, L. and Zeiger, E.**, 1998, "Plant Phisiology". 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers).*

Sabido que las sustancias no difunden en contra de gradiente de concentración, queda claro que los minerales se absorben por transporte activo. Por otra parte la absorción de minerales es un proceso activo que necesita energía; si las raíces son privadas de la presencia de oxígeno, o envenenadas de forma que la respiración se minimiza, la absorción de minerales disminuye de forma muy marcada. Igualmente, si se priva a una planta de luz, cesará la absorción de sales una vez se hayan agotado las reservas de hidratos de carbono, y las liberará de nuevo a la solución del suelo (**Figura 2.10**).

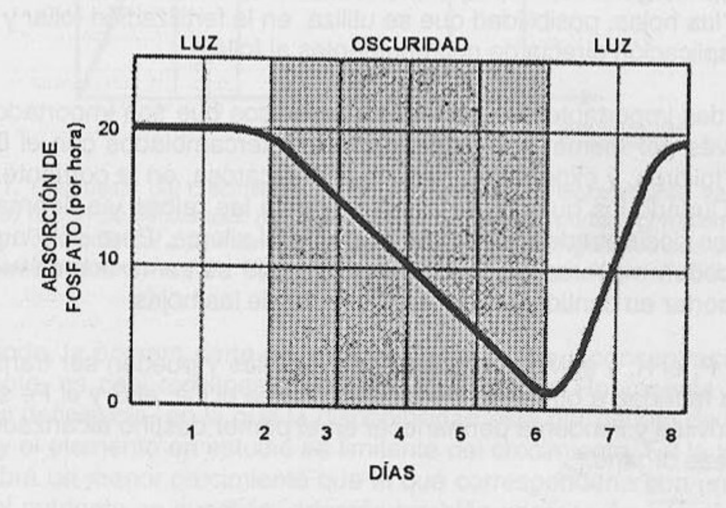


Figura 2.10. *Tasa de absorción de fosfato en la planta de maíz después de 4 días continuos de oscuridad y posterior iluminación. Estos datos indican que la absorción de sales en las plantas es un proceso activo que requiere energía. (Figura modificada de* ***Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E.****, 1999. "Biology of Plants". 6th ed., W.H. Freeman and Company).*

Así pues, el transporte de iones desde el suelo a los vasos del xilema requiere dos procesos de transporte activo a través de membranas: uno en la membrana citoplasmática de las células epidérmicas durante la absorción y otro en la membrana citoplasmática de las células del parénquima vascular durante la secreción a los vasos.

2.3.3. TRANSPORTE DE NUTRIENTES INORGÁNICOS

Cuando los iones inorgánicos son secretados en el interior de los vasos de xilema radical, son rápidamente conducidos hacia arriba y por toda la planta gracias a la corriente de transpiración. Algunos iones se mueven lateralmente desde el xilema hacia los tejidos circundantes de las raíces y de los tallos, mientras que otros son transportados hacia las hojas.

Una vez alcanzadas las hojas los iones pueden seguir tres caminos: (1) son transportados con el agua en el apoplasto de la hoja; (2) pueden permanecer en el agua de transpiración y llegar a los lugares principales de pérdida de agua, los estomas y células epidérmicas; y (3) La mayoría de los iones entran en los protoplastos de las células de la hoja, probablemente por mecanismos en los que está implicado el transporte activo, y moverse vía simplática a otras partes de la hoja, incluyendo el floema.

Los iones inorgánicos, en pequeñas cantidades, también se pueden absorber a través de las hojas, posibilidad que se utiliza en la fertilización foliar y que consiste en la aplicación directa de micronutrientes al follaje.

Cantidades importantes de los iones inorgánicos que son importados por las hojas a través del xilema, son posteriormente intercambiados con el floema en los nervios foliares, y exportados, junto con la sacarosa, en la corriente de fotoasimilados. Cuando los nutrientes se dirigen hacia las raíces vía floema, pueden reciclarse; es decir pueden intercambiarse con el xilema. Pero sólo aquellos iones que pueden moverse en el floema, a los que se llama floema-móviles, se pueden exportar en cantidades significativas desde las hojas.

El N, el P, el K, y el Mg son típicamente móviles y pueden ser transportados con relativa facilidad a otros órganos, mientras que el Ca, el S y el Fe son más o menos inmóviles y tienden a permanecer en el primer destino alcanzado hasta la muerte de ese órgano.

2.3.4. SUMINISTRO DE NUTRIENTES Y CRECIMIENTO

Debido a la esencialidad de los nutrientes para la formación de nuevas moléculas y nuevas células, existe una estrecha relación entre suministro de nutrientes y crecimiento.

Para estudiar esta relación, por lo general se recurre a las técnicas de cultivo hidropónico con soluciones nutritivas. La técnica de cultivo hirdopónico se basa en reemplazar el sustrato natural, el suelo, por agua o algún otro material inerte, de tal forma que no proporcione a la planta ningún nutriente. El aporte de nutrientes se realiza añadiendo al sustrato inerte una solución nutritiva que contendrá diversas sales inorgánicas cuyos aniones y cationes llevarán los elementos necesarios. Existen diferentes fórmulas estandarizadas de soluciones completas, que permiten el normal crecimiento de las plantas. Sin embargo, también es posible modificar esta composición para estudiar qué ocurre cuando un determinado nutriente falta, está en cantidades muy bajas, o se encuentra en exceso.

Cuando se estudia la respuesta del crecimiento frente a cantidades variables de un nutriente, se obtiene una curva como la siguiente (**Figura 2.11**).

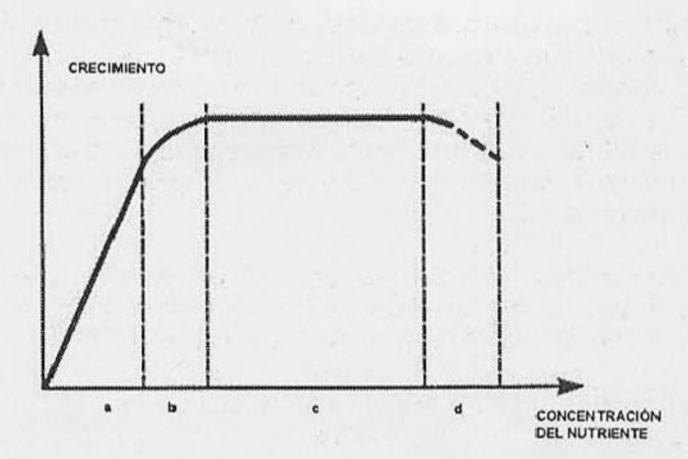


Figura 2.11. Respuesta del crecimiento de las plantas ante concentraciones variables de un nutriente: (a) región de deficiencia; (b) región de concentración óptima; (c) región en que otros factores son limitantes del crecimiento; (d) región de toxicidad. (Figura tomada de ***Pérez García, F. y Martínez-Laborde, J.B.****, 1994. "Introducción a la Fisiología Vegetal". Ediciones Mundi-Prensa)*

En donde, la primera parte de la curva corresponde a concentraciones bajas del nutriente, es casi rectilínea y con cierta pendiente. Representa la zona de carencia o deficiencia, en la que la disponibilidad está por debajo de los requerimientos, y el elemento en estudio es limitante del crecimiento. En la zona de carencia habrá un menor crecimiento que el que correspondería con un suministro óptimo del nutriente en cuestión, además también aparecerán en muchos casos manchas amarillentas (clorosis), coloraciones rojizas, necrosis, etc. En esta región un aumento de la concentración del nutriente corresponderá un aumento proporcional del crecimiento.

La localización de los síntomas estará en relación con la movilidad del nutriente. En el caso de elementos móviles, serán transportados a las zonas en crecimiento, y los síntomas se apreciarán en las hojas más viejas, generalmente las inferiores. En el caso de elementos inmóviles los síntomas de deficiencia se manifestarán en las partes jóvenes.

En condiciones naturales las deficiencias pueden estar causadas por la escasez del nutriente en el suelo, por encontrarse el nutriente en formas químicas inadecuadas, o bien por antagonismo con algún otro compuesto.

La segunda parte de la curva es casi horizontal. Representa la zona de concentración óptima, en la que se ha alcanzado el máximo crecimiento que los otros factores permiten. El nutriente en estudio ha dejado de ser limitante y un aumento en su concentración no produce mayor crecimiento debido a que otro factores actúan como limitantes. Si se sobrepasa con mucho la concentración óptima, se llega a la zona de toxicidad en la que se produce una caída del crecimiento, debido a efectos tóxicos del nutriente.

TEMA 3

TRANSPORTE EN EL FLOEMA

3.1. EL FLOEMA COMO SISTEMA CONDUCTOR DE SOLUTOS

La actividad metabólica de los diferentes órganos (o partes de órganos vegetales requiere el aporte de fotoasimilados en cantidades diversas. En algunos casos, los procedentes de la actividad fotosintética de ese órgano, o bien de la hidrólisis de reservas acumuladas previamente en él, pueden satisfacer y sobrepasar los niveles señalados por estas necesidades; el órgano se autoabastece y está en condiciones de *exportar* fotoasimilados. En otros casos, el órgano puede ser claramente deficitario y debe *importar* fotoasimilados. El transporte de fotoasimilados a larga distancia, de un órgano a otro, se denomina ***translocación*** y se lleva a cabo, en general, por el *floema*.

Como se discutió en capítulos anteriores, el xilema y el floema juntos forman un sistema vascular continuo que penetra prácticamente en todas las partes de la planta. Así como el agua y los solutos inorgánicos ascienden a través del xilema, o corriente de transpiración, los azúcares manufacturados durante la fotosíntesis salen de la hoja a través del floema, o *corriente de asimilables* (**Figura 3.1**) hacia lugares donde se utilizan, como el vástago en crecimiento y la caliptra de la raíz, y a lugares de almacenamiento como frutos, semillas y el parénquima de almacenamiento de tallos y raíces (ver **Figura 3.2**).

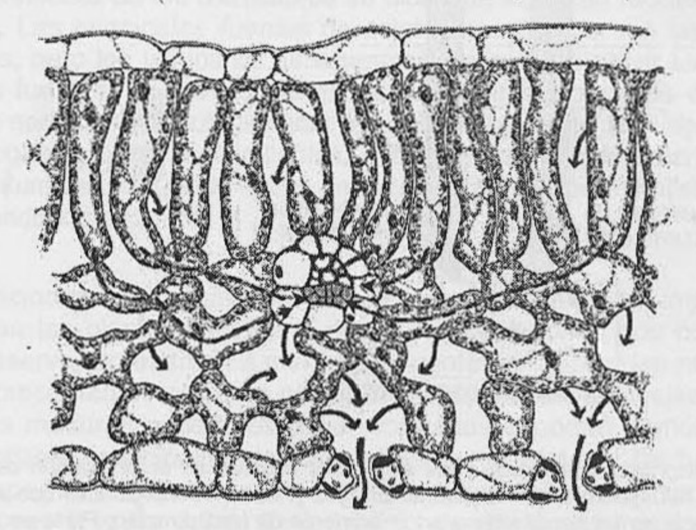


Figura 3.1. *Diagrama de la hoja que muestra los caminos seguidos por las moléculas de agua de la corriente de transpiración a medida que se mueven desde el xilema de un vaso menor hacia las células mesofíticas, se evaporan de las superficies de las paredes de las células mesofílicas, y se difunden después fuera de la hoja a través de un estoma abierto (líneas continuas). También se muestran los caminos seguidos por las moléculas de azúcar producidas durante la fotosíntesis a medida que se mueven desde las células mesofílicas al floema del mismo vaso y entran en la corriente de asimilación. Se cree que las moléculas de azúcar producidas en el parénquima en empalizada se dirigen al parénquima esponjoso y después lateralmente al floema a través de las células esponjosas (líneas discontinuas). [Figura modificada de* ***Raven, P.H. and Eichhorn, S.E.*** *(1999). Biology of Plants. 6th ed., W.H. Freeman and Company. Worth Pub.].*

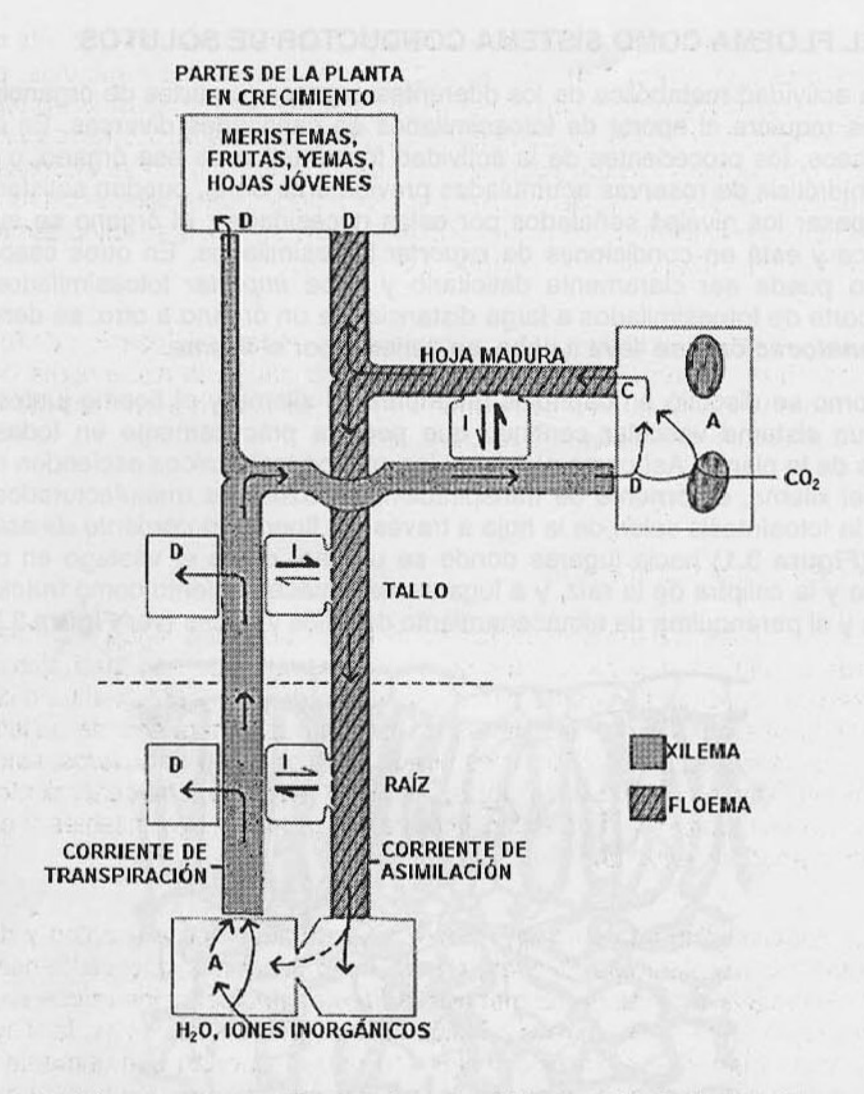


Figura 3.2. Diagrama que muestra los elementos básicos en la circulación del agua, iones inorgánicos, y fotoasimilados en la planta. El agua y los iones inorgánicos que absorbe la raíz se mueven hacia arriba por el xilema en la corriente de transpiración. Parte se mueve lateralmente hacia los tejidos de la raíz y del tallo, mientras que otra parte es transportada hacia zonas de la planta en crecimiento y hojas maduras. En las hojas, cantidades sustanciales de agua e iones inorgánicos son transferidos al floema y son exportados con sacarosa y la corriente de asimilación. Las partes de la planta en crecimiento, que son relativamente inefectivas capturando agua a través de la transpiración, reciben muchos de sus nutrientes y agua vía el floema. El agua y los solutos que entran en las raíces en el floema se pueden transferir al xilema y ser recirculados en la corriente de transpiración. La letra ***A*** *indica sitios especializados en la absorción y asimilación de materias primas del entorno.* ***C*** *y* ***D*** *designan sitios de carga y descarga, respectivamente, e* ***I****, puntos principales de intercambio entre el xilema y el floema. [Figura modificada de* ***Raven, P.H. and Eichhorn, S.E.*** *(1999). Biology of Plants. 6th ed., W.H. Freeman and Company. Worth Pub.].*

Las células conductoras del floema de las Angiospermas son los ***elementos cribosos*** que carecen de núcleo y de la mayoría de los orgánulos, pero son ricos en una proteína filamentosa específica del floema, llamada *proteína P*. Los elementos cribosos forman series longitudinales llamadas ***tubos cribosos***. Los elementos cribosos presentan poros, que forman *áreas cribosas* en las paredes laterales, y *placas cribosas* en las paredes transversales. Las placas cribosas posibilitan la comunicación y amplia continuidad citoplasmática entre elementos cribosos de un mismo tubo criboso.

El floema es el tejido conductor especializado en la translocación de fotoasimilados. El movimiento de este contenido puede ser tanto ascendente como descendente y sus diferentes componentes pueden moverse en sentidos contrarios, aún dentro de un mismo haz conductor.

3.1.1. FUENTES Y SUMIDEROS

Del movimiento de los asimilables se dice que sigue un modelo de fuente-a-sumidero. Las principales *fuentes* de solutos asimilables son las hojas fotosintetizantes, pero los tejidos de almacenamiento pueden servir también como importantes fuentes. Todas las partes de las plantas incapaces de satisfacer sus propias necesidades nutricionales pueden actuar como *sumideros,* esto es, pueden importar productos asimilables. Así, los tejidos de almacenamiento actúan como sumideros cuando están importando productos asimilables y como fuentes cuando los exportan.

Las relaciones fuente-sumidero pueden ser relativamente simples y directas, como en las plántulas jóvenes, donde los cotiledones que contienen alimento de reserva representan a menudo la fuente principal, y las raíces en crecimiento representan el sumidero principal. En las plantas las viejas, la mayoría de las hojas maduras superiores recién formadas exportan comúnmente productos asimilables principalmente hacia el ápice del vástago; las hojas de más abajo los exportan principalmente a las raíces; y las del medio exportan en ambas direcciones (**Figura 3.3a**). Este modelo de distribución de los productos asimilables se ve marcadamente alterado durante el cambio de crecimiento vegetativo a reproductivo. Los frutos en desarrollo son sumideros competentes que monopolizan los productos de las hojas más próximas y, frecuentemente, los de las más alejadas también, causando a menudo un declive o cese virtual del crecimiento vegetativo (**Figura 3.3b**).

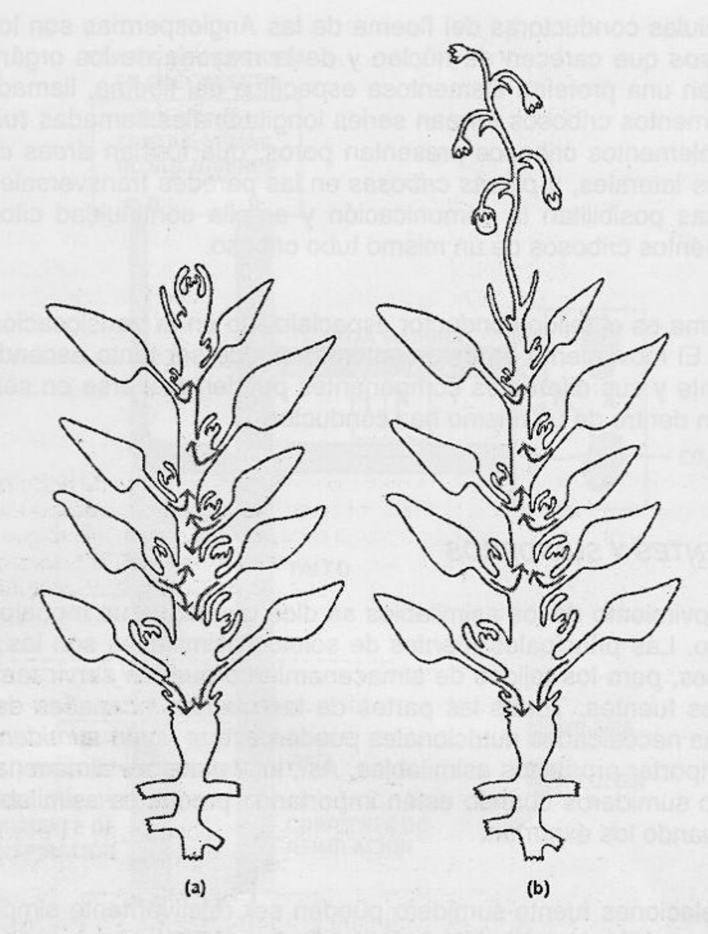


Figura 3.3. Diagramas de una planta en (a) estado vegetativo y (b) estado fructífero. Las flechas indican la dirección del transporte de fotoasimilados en cada estado. [Figura modificada de Raven, P.H. and Eichhorn, S.E. (1999). Biology of Plants. 6th ed., W.H. Freeman and Company. Worth Pub.].

3.1.2. EVIDENCIAS DEL TRANSPORTE DE AZÚCAR EN EL FLOEMA

Las primeras evidencias que apoyan el papel del floema en el transporte de productos asimilables vino de las observaciones de árboles a los que se les había quitado un anillo completo de corteza. La corteza de los tallos más viejos está compuesta principalmente de floema y no contiene xilema. Cuando a un árbol que está fotosintetizando se le quita una tira de corteza o se le hace una incisión circular alrededor de él, la corteza por encima de la manipulación se hincha, indicando la acumulación de productos que se mueven hacia abajo por el floema desde las hojas fotosintetizadoras (**Figura 3.4**).

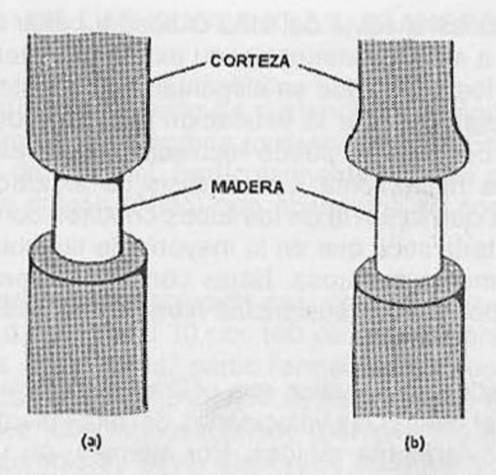


Figura 3.4. Cuando de un tallo se extrae un trozo de corteza en forma de anillo (a), los tejidos por encima del corte se abultaban (b). Este fenómeno se debe a un crecimiento nuevo de la madera y tejidos de la corteza estimulado por una acumulación de alimento que se desplaza hacia abajo desde las hojas y que queda interceptado en al anillo. Este fenómeno no se produce durante los meses de invierno. [Figura modificada de ***Raven, P.H. and Eichhorn, S.E.*** *(1999). Biology of Plants. 6th ed., W.H. Freeman and Company. Worth Pub.].*

Una evidencia mucho más convincente del papel del floema en el transporte de asimilables se obtuvo con marcadores radiactivos. Antes de que dichos marcadores fueran disponibles, era necesario efectuar un corte en la planta intacta para la introducción de colorantes y otras sustancias para intentar estudiar ciertos fenómenos de transporte. No obstante, cuando las altas presiones de turgencia (hidrostáticas) de los tubos cribosos son liberadas al tiempo que éstos son cortados, sus contenidos se agolpan hacia la superficie cortada, alterando considerablemente el sistema. Este fenómeno es el responsable de la formación de tapones mucilaginosos (proteína P) en los elementos cribosos dañados. Con la utilización de marcadores radiactivos, es posible experimentar ahora con plantas enteras y obtener así una comprensión bastante clara de los fenómenos normales de transporte.

Los resultados de experimentos con asimilables radiactivos (como sacarosa marcada con ^{14}C confirmaron el movimiento de dichas sustancias en el floema. Más recientemente, dichos estudios han demostrado concluyentemente que los azúcares son transportados en los tubos cribosos del floema

3.1.3. LOS ÁFIDOS (PULGONES) EN LA INVESTIGACIÓN DEL FLOEMA

Mucha información interesante del movimiento de sustancias en el floema proviene de estudios realizados con áfidos: pequeños insectos que chupan los jugos de las plantas. La mayoría de las especies de áfidos se alimentan del floema. Cuando estos áfidos insertan sus piezas bucales modificadas, o estiletes, dentro del tallo u hoja, los extienden hasta que sus puntas perforan un tubo criboso de conducción (**Figura 3.5**). La presión de turgencia de los tubos

cribosos fuerza entonces la savia del tubo criboso a pasar a través del aparato digestivo del áfido y a salir al exterior por su extremo posterior en forma de gotitas azucaradas. Si los áfidos que se alimentan son anestesiados y separados de sus estiletes, suele continuar la exudación durante muchas horas. La exudación de los tubos cribosos se puede recolectar de los extremos cortados de los estiletes con una micropipeta. Los análisis de exudaciones obtenidas de esta manera revelan que la savia de los tubos cribosos contiene de un 10 a un 25 por ciento de materia seca que en la mayoría de las plantas el 90 % de ella es azúcar, principalmente sacarosa. Bajas concentraciones (menos del 1 por ciento) de aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas están también presentes.

Los datos obtenidos de estudios que utilizan áfidos y marcadores, radiactivos indican que. en el floema las velocidades del movimiento longitudinal de los productos son particularmente rápidas. Por ejemplo, en una serie de experimentos que utilizaron estiletes de áfido cortados, se estimó que la savia de los tubos cribosos se estaba moviendo a una velocidad de más o menos 100 centímetros por hora en las zonas de la punta de los estiletes.

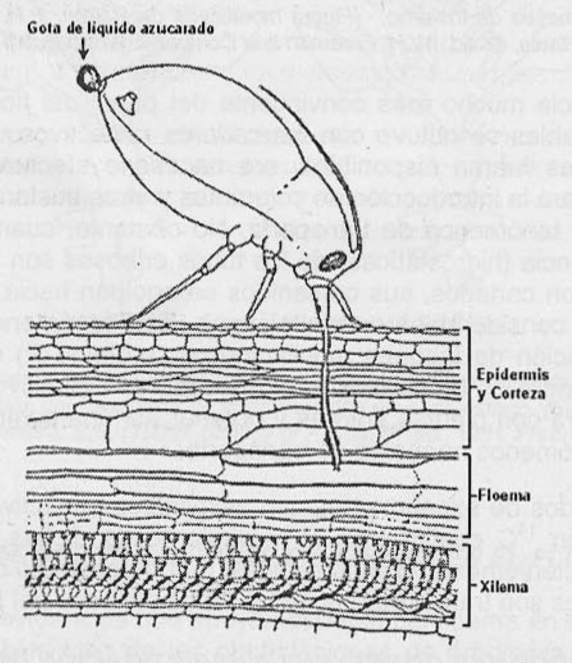


*Figura 3.5. Dibujo de un áfido alimentándose sobre un tallo. El áfido introduce su estilete (pieza bucal modificada) hasta los tubos cribosos del floema. La presión a la que se encuentra la corriente de asimilación hace que parte del fluido floemático se introduzca a través del estilete hasta el tubo digestivo del áfido, llegando incluso a salir por el extremo distal del mismo. En el dibujo puede verse emergiendo una gotita de líquido azucarado. Tomando muestras de estas gotitas se puede analizar la composición del líquido floemático. [Figura modificada de **Raven, P.H. and Eichhorn, S.E.** (1999). Biology of Plants. 6th ed., W.H. Freeman and Company. Worth Pub.].*

3.2. NATURALEZA DE LAS SUSTANCIAS TRANSPORTADAS POR EL FLOEMA

Si se quiere analizar la solución de sustancias asimiladas transportadas en el floema, se requiere savia elaborada (o descendente). Esta se puede obtener raspando la corteza de un árbol. Particularmente pura se puede conseguir mediante el método del pulgón (Áfido) que acabamos de comentar en el párrafo anterior.

La savia elaborada es una solución muy concentrada con un contenido de materia seca de 50 a 300 g/l. El 90 por 100 de la materia seca de la savia elaborada corresponde a azúcares, particularmente sacarosa. En otras plantas también se encuentran otros oligosacáridos, por ejemplo, rafinosa y estaquinosa, así como alditoles. Los monosacáridos (por ejemplo glucosa, fructosa) no se transportan. En cambio, la savia elaborada contiene también aminoácidos, amidas, nucleótidos, ácidos orgánicos e iones inorgánicos (aunque no Ca^{2+}). Estas sustancias, no obstante, aparecen en concentraciones mucho más pequeñas, comparadas con las de azúcares. Los pulgones y otros parásitos requieren los azúcares y otros compuestos acompañantes, como compuestos nitrogenados, en cantidades equilibradas. Es por eso cuando toman la alimentación descrita el exceso de azúcar lo exudan en forma de "melaza".

Los tubos cribosos contienen una proteína especial, la proteína P. Esta tiende a acumularse en la cercanía de las placas cribosas y no se transporta. Se supone que tapa los tubos cribosos en caso de ocurrir una lesión, impidiendo el derrame de la savia elaborada que está bajo presión.

3.3. MECANISMO DE TRANSPORTE EN EL FLOEMA. HIPÓTESIS DE MÜNCH

A lo largo de los años se han propuesto diferentes mecanismos para explicar el transporte de productos asimilables en los tubos cribosos del floema. Probablemente el primero fue el de difusión, seguido del de corriente citoplasmática. La difusión y la corriente citoplasmática normales, del tipo que se encuentra en las células de las plantas superiores, fueron en gran parte abandonados como posibles mecanismos de translocación cuando se supo que las velocidades del transporte de asimilables (típicamente 50 a 100 centímetros por hora) eran demasiado altas para que cualquiera de estos fenómenos justificara el transporte a grandes distancias vía los tubos cribosos.

Se han propuesto hipótesis alternativas para explicar el mecanismo de transporte en el floema, pero sólo una, la hipótesis de flujo de presión, justifica satisfactoria y prácticamente todos los datos obtenidos en estudios experimentales y estructurales del floema. Todas las otras hipótesis tienen serias deficiencias.

Propuesta originalmente en 1927 por el fisiólogo vegetal alemán Ernst Münch, y modificada desde entonces, la hipótesis de flujo de presión es claramente la más sencilla y, hoy en día, la explicación más extendida y aceptada del transporte de asimilables a grandes distancias a través de los tubos cribosos. Es la explicación más sencilla porque sólo depende de la ósmosis como fuerza que impulsa el transporte de asimilables.

Dicho en pocas palabras, la *hipótesis de flujo de presión* afirma que los asimilables son transportados de fuente a sumidero a lo largo de un gradiente de presión de turgencia desarrollado osmóticamente. El principio fundamental de esta hipótesis se puede ilustrar con un sencillo modelo físico que consiste en ampollas, o células osmóticas, permeables sólo al agua y conectadas por tubos de vidrio (**Figura 3.6**). Inicialmente, la primera ampolla (A) contiene una solución de azúcar más concentrada que la de la segunda ampolla (B). Cuando estas ampollas interconectadas se meten en el agua, ésta entrará en la primera ampolla por ósmosis, incrementando así su presión de turgencia. Esta presión se transmitirá a través del tubo a la segunda ampolla, haciendo que la solución de azúcar se mueva en volumen, o en masa, hacia la segunda ampolla, haciendo salir el agua de ésta. Si la segunda ampolla está conectada con una tercera que contiene una concentración de sacarosa menor que la de la segunda, la solución fluirá de la segunda a la tercera por el mismo proceso, y así indefinidamente siguiendo él gradiente de presión turgente.

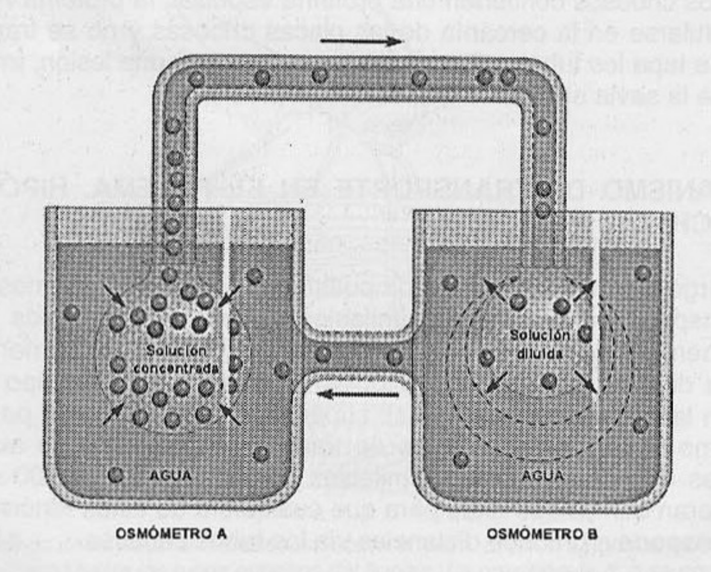


Figura 3.6. El modelo de Münch del mecanismo básico del flujo a presión. A y B son células osmóticas. A, contiene una concentración más alta de sacarosa que B. Ambos osmómetros se encuentran sumergidos en cubetas con agua y conectados por un tubo de vidrio. El agua entra en A por ósmosis, incrementando así la presión de turgencia y empujando la solución de azúcar hacia el osmómetro B. [Figura modificada de ***Moore, R., Clark, W.D. and Vodopich, D.S.*** *(1998). Botany. 2nd ed., WCB McGraw-Hill].*

En la planta, la sacarosa producida por la fotosíntesis en una hoja es secretada activamente a los tubos cribosos menores (**Figura 3.7**). Este proceso activo, llamado *carga de floema*, disminuye el potencial hídrico en el tubo criboso y hace que el agua que está entrando a la hoja por la corriente de transpiración penetre en el tubo criboso por ósmosis. Con el movimiento de agua al tubo criboso de esta fuente, la sacarosa es transportada pasivamente por el agua a un sumidero, como una raíz de almacenamiento donde la sacarosa es extraída (descargada) del tubo criboso. La extracción de sacarosa provoca un aumento del potencial hídrico en el tubo criboso del sumidero y el movimiento subsiguiente del agua fuera de él en ese lugar. La sacarosa puede ser utilizada o almacenada en el sumidero, pero la mayor parte del agua regresa al xilema y recircula en la corriente de transpiración.

Nótese que la hipótesis de flujo de presión asigna a los tubos cribosos un papel *pasivo* en el movimiento de la solución de azúcar a través de ellos. El transporte activo está también implicado en el mecanismo de flujo de presión; no obstante, no está directamente relacionado con el transporte a grandes distancias a través de los tubos cribosos, sino más bien con la carga y posible descarga de azúcares y otras sustancias dentro y fuera de los tubos cribosos en las fuentes y sumideros. Una evidencia considerable indica que la fuerza que impulsa la acumulación de sacarosa (carga del floema) en la fuente es suministrada por una bomba de protones activada por ATP y mediada por ATPasa en la membrana citoplasmática, que implica un sistema de cotransporte sacarosa-protón ("simporte"). La energía metabólica necesaria para la carga y descarga es consumida por las células acompañantes o las células del parénquima que bordean los tubos cribosos, más que por los tubos cribosos. Hasta hace poco se asumía que la carga se daba a través de la membrana citoplasmática de la célula acompañante que luego transfería el azúcar a su tubo criboso asociado vía las múltiples conexiones plasmodésmicas de su pared común. Ahora parece, no obstante, que algunos tubos cribosos son capaces de cargarse ellos mismos, siendo el sitio de transporte activo sus membranas citoplasmáticas. Cualquiera que sea el caso, el tubo criboso maduro depende de su célula acompañante o de las células del parénquima vecinas para la mayoría de sus necesidades energéticas.

La carga del floema es un proceso selectivo. Como se mencionó previamente, la sacarosa es con mucho el azúcar más comúnmente transportado; además, todos los azucares que se encuentran en la savia de los tubos cribosos son azúcares no reductores. Ciertos aminoácidos e iones son también cargados selectivamente al floema.

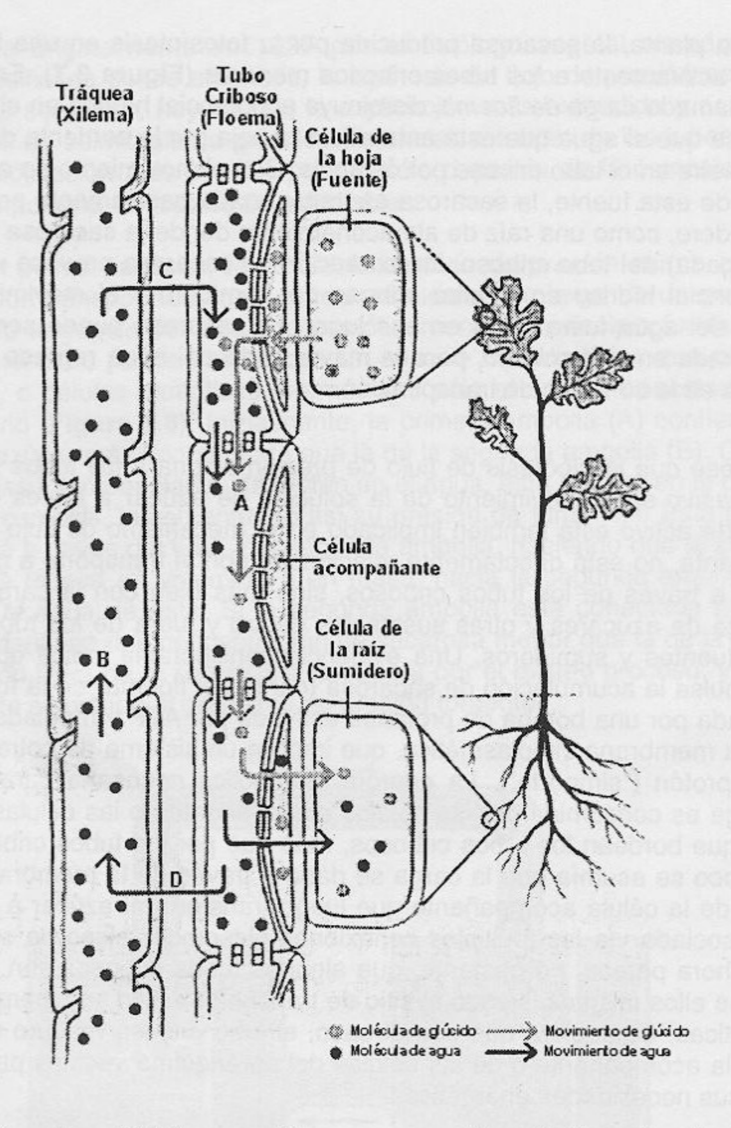


*Figura 3.7. Mecanismo del flujo por presión que se cree actúa en la planta. Los círculos grises representan moléculas de glúcidos y los negros moléculas de agua. Los azúcares fotosintetizados son cargados activamente en el tubo criboso a partir de la fuente (célula de una hoja). Con la mayor concentración de azúcar, el potencial hídrico decrece y el agua del xilema entra en el tubo criboso por ósmosis. El azúcar es extraído (descargado) en el sumidero, y la concentración de azúcar disminuye; el resultado de esto es que el potencial hídrico aumenta, y el agua abandona el tubo criboso. Con el movimiento del agua hacia dentro del tubo criboso en la fuente y hacia fuera de él en el sumidero, las moléculas de azúcar son transportadas pasivamente a lo largo del gradiente de concentración y el gradiente de presión hidrostática entre la fuente y el sumidero. **A**, flujo de la solución de azúcar entre la fuente y el sumidero; **B**, flujo de agua en la corriente de transpiración; **C**, flujo de agua entre el xilema y el floema en la zona fuente; y **D**, flujo de agua entre el floema y el xilema en la zona sumidero. [Figura modificada de **Curtis, H. y Barnes, N.S.** (1997). "Invitación a la Biología". Ed. Panamericana].*

TEMA 4

REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO: LAS HORMONAS VEGETALES.

Una planta, para crecer, necesita luz, CO_2, agua y elementos minerales, incluido el nitrógeno, del suelo. Con todos estos elementos, la planta fabrica materia orgánica, convirtiendo materiales sencillos en los complejos compuestos orgánicos de que están compuestos los seres vivos. La planta no se limita a aumentar su masa y su volumen, sino que se diferencia, se desarrolla, adquiere una forma y crea una variedad de células, tejidos y órganos. ¿Cómo puede una sola célula, el zigoto, ser el origen de las variadísimas partes — **vástago, raíz, flor, fruto, semilla — que componen el extra**ordinario individuo conocido como una "planta normal"? Muchos de los detalles de cómo están regulados estos procesos no son conocidos, pero ha quedado claro que el desarrollo normal depende de la conjunción de numerosos factores internos y externos. Los principales factores internos son compuestos químicos, y éstos vas a ser el objeto de la presente unidad temática. Algunos factores externos — **luz, temperatura, longitud del día, gravedad, y otros — que también afectan al desarrollo de las plantas serán discutidos** en la unidad siguiente.

Las sustancias controladoras del crecimiento en las plantas son conocidas como **fitohormonas** (hormonas vegetales). Las hormonas son sustancias que son producidas en un tejido y transportadas a otro, desde donde ejercen efectos muy específicos y producen unas respuestas fisiológicas determinadas. Las hormonas son activas en cantidades pequeñísimas. Por ejemplo, en el vástago de una piña tropical (*Ananas comosus*) sólo se encuentran 6 microgramos de ácido indolacético (auxina), una conocida fitohormona, por kilogramo de material vegetal (el peso de la hormona en relación con el vástago es comparable al peso de una aguja en 22 toneladas de heno).

El término "**hormona**" procede de una palabra griega (*hormaein*) que significa excitar. No obstante, hoy se sabe que muchas hormonas tienen efectos inhibitorios. De modo que en lugar de considerar las hormonas como estimuladores, quizá sea más útil considerarlas como **reguladores químicos**. Pero aquí debe hacerse una observación. La respuesta a un "regulador" particular depende no sólo de su contenido (**estructura química**) sino de cómo es "leído" por el receptor (**especificidad tisular**).

Se conocen cinco grupos principales de hormonas vegetales o fitohormonas: las auxinas, las citoquininas, las giberelinas, el etileno y el ácido abscísico. Otras sustancias que eventualmente pueden clasificarse como fitohormonas son: las poliaminas, los jasmonatos, el ácido salicílico, los brasinosteroides, y la sistemina.

4.1. LA AUXINA

Algunas de las primeras experiencuas registrados sobre sustancias reguladoras del crecimiento fueron llevados a cabo por Charles Darwin y su hijo Francis y fueron dados a conocer en el libro *The Power of Movement in Plants* (La capacidad del movimiento en las plantas), publicado en 1881. Los Darwin trabajaron

con plántulas de alpiste (*Phalaris canariensis*) y de avena (*Avena sativa*) y realizaron las primeras observaciones sistemáticas referentes a la encorvadura hacia la luz (*fototropismo*). Probaron que si se cubría la parte superior de una plántula (el denominado **coleoptilo**) con un cilindro de metal o con un tubo de vidrio ennegrecido con tinta china y se le exponía a una luz lateral, no se producía el encorvamiento característico en la parte inferior del vástago (**Figura 4.1**). En cambio, si en los ápices se colocaban tubos de vidrio transparentes, el encorvamiento ocurría normalmente. "*Debemos concluir, por tanto,* — **escribieron** — *que cuando las plántulas son expuestas libremente a una luz lateral se transmite cierta influencia desde la parte superior a la parte inferior, que obliga a la planta a encorvarse.*"

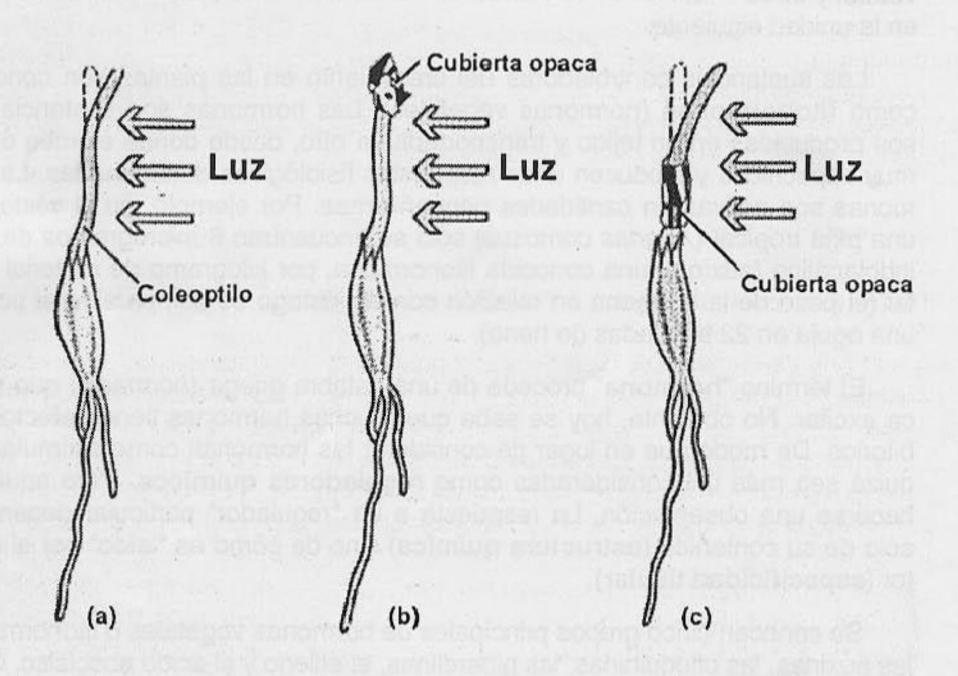


***Figura 4.1. El experimento de los Darwin.** (a) Las plántulas crecían normalmente curvándose hacia la luz. (b) Cuando el ápice de una plántula se cubría con un cono metálico no se producía la curvatura. (Si que se producía cuando el ápice se cubría con un cono transparente). (c) Cuando se colocaba un collar metálico rodeando la plántula por debajo del ápice, se producía la respuesta característica. A partir de estos experimentos los Darwin concluyeron que, en respuesta a la luz, una "influencia" se transmite desde el ápice de la plántula hacia la parte inferior, que obliga a la planta a curvarse. [Figura modificada de **Curtis, H. y Barnes, N.S.** (1997). "Invitación a la Biología". Ed. Panamericana].*

En 1926, el fisiólogo vegetal holandés Frits W. Went consiguió aislar esta "influencia" de las plantas que la desencadenaba. Went cortó los ápices de los coleoptilos correspondientes a cierto número de plántulas de avena y los colocó por espacio de una hora sobre láminas de agar, de modo que las superficies de corte estuviesen en contacto con el agar. Entonces cortó el agar en pequeños cubitos y los colocó, descentrados, en cada sección de los brotes decapitados, las cuales fueron mantenidas en oscuridad durante todo el experimento. Al cabo de una hora, observó una curvatura apreciable hacia el lado *contrario* de donde estaba colocado el bloque de agar (**Figura 4.2**). Los bloques de agar que no habían sido puestos en contacto con ápices de coleoptilo no producían encorvadura alguna, o bien producían una ligera curvatura hacia el lado en que había sido colocado el bloque de agar. Los bloques de agar que habían sido puestos en contacto con un trozo de coleoptilo de la parte baja no produjeron ningún efecto fisiológico.

Con estos experimentos, Went demostró que el ápice del coleoptilo ejerce sus efectos mediante un estímulo químico (es decir, una hormona), más bien que con un estímulo físico, tal como uno de naturaleza eléctrica. Este estímulo comenzó a conocerse con el nombre de **auxina**, término creado por Went a partir de la palabra griega *auxein*, "aumentar".

4.1.1. LA AUXINA RESULTÓ SER QUÍMICAMENTE EL ÁCIDO INDOLACÉTICO

La curvatura producida en el coleoptilo de avena a causa de la colocación de un bloque de agar conteniendo auxina se debe a una distribución asimétrica de ésta, que se traduce en un incremento asimétrico del tamaño celular en el coleoptilo; las células situadas debajo del bloque de agar con auxina, tienen un mayor crecimiento en longitud que aquéllas situadas en el extremo opuesto. Las condiciones para la utilización de los coleoptilos de avena y la colocación de los bloques de agar se ha estandarizado de forma que el ángulo de curvatura producido (medido con un protractor) puede ser usado para determinar la cantidad de auxina presente en dicho bloque. Utilizando esta técnica, conocida como bioensayo de la curvatura de la Avena, algunos investigadores fueron capaces de aislar e identificar la auxina que se encuentra de forma natural en las plantas. Esta resultó ser químicamente el ácido indolacético (AIA, de forma abreviada).

Como puede verse en la **Figura 4.3**, el AIA se parece mucho al aminoácido triptófano, y probablemente es éste el precursor del AIA formado en la planta viva, aunque se conocen cuatro vías de formación del AIA cada una de ellas con un intermediario distinto. Diferentes grupos de plantas emplean distintas rutas para producir AIA a partir del triptófano. Además, algunas plantas, tales como el

maíz (*Zea mays*) emplean distintas rutas según su estado de desarrollo. La auxina se produce en los ápices de los coleoptilos de las gramíneas y en los meristemos apicales de los tallos y, en menor proporción, de las raíces. También se encuentra en los embriones, en cantidades notables, y en las hojas jóvenes, flores y frutos.

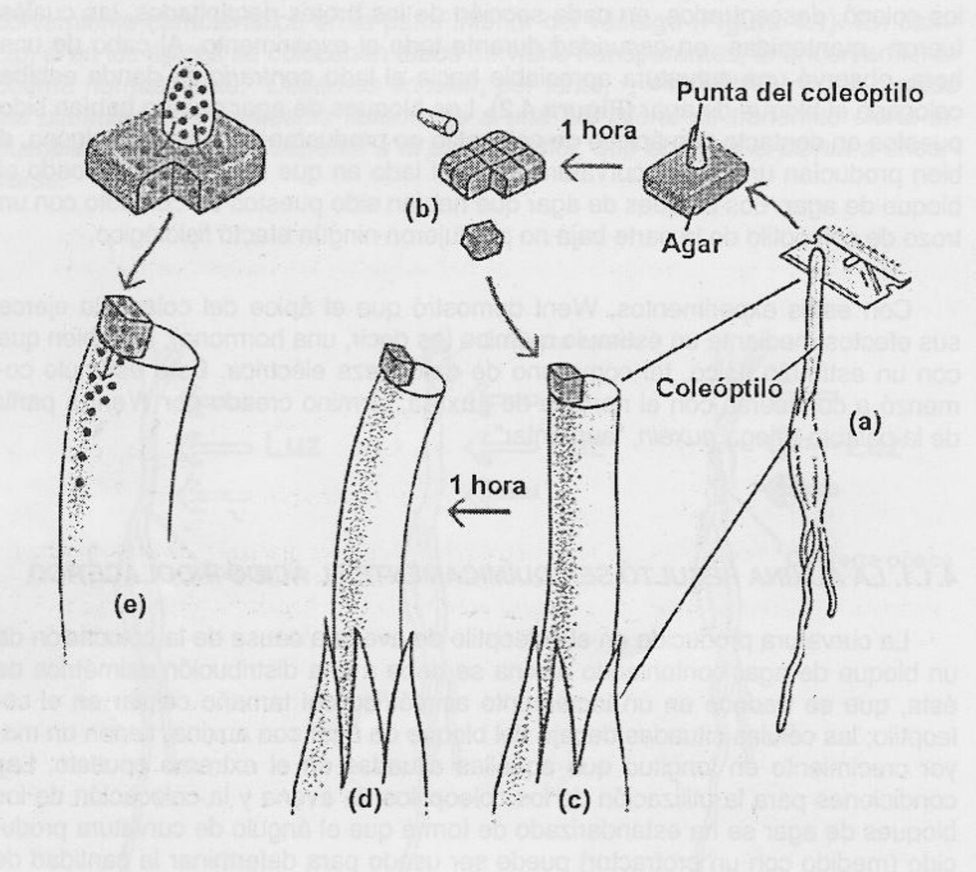


Figura 4.2. Experimentos de Went. *(a) Went cortó los ápices de los coleoptilos y los colocó en agar durante 1 hora. (b) El agar era luego cortado en pequeños bloques y cada uno de ellos se colocaba en un lado de los coleoptilos decapitados de las plántulas. (c) Las plántulas, que se mantenían en oscuridad durante la experiencia, se curvaban entonces hacia el lado opuesto a donde se había colocado el bloque de agar (d). A partir de estos resultados, Went concluyó que la "influencia" que causaba la curvatura en la plántula era un compuesto químico y que se acumulaba en el lado opuesto a la zona iluminada. (e) La curvatura es el resultado de la influencia de la hormona auxina. Su efecto es el de promover el alargamiento celular. En el experimento de Went, las moléculas de auxina (puntitos negros) se transfirieron primero al agar y luego, mediante los cubitos de agar, a un lado del brote de la plántula. [Figura modificada de* ***Curtis, H. y Barnes, N.S.*** *(1997). "Invitación a la Biología". Ed. Panamericana].*

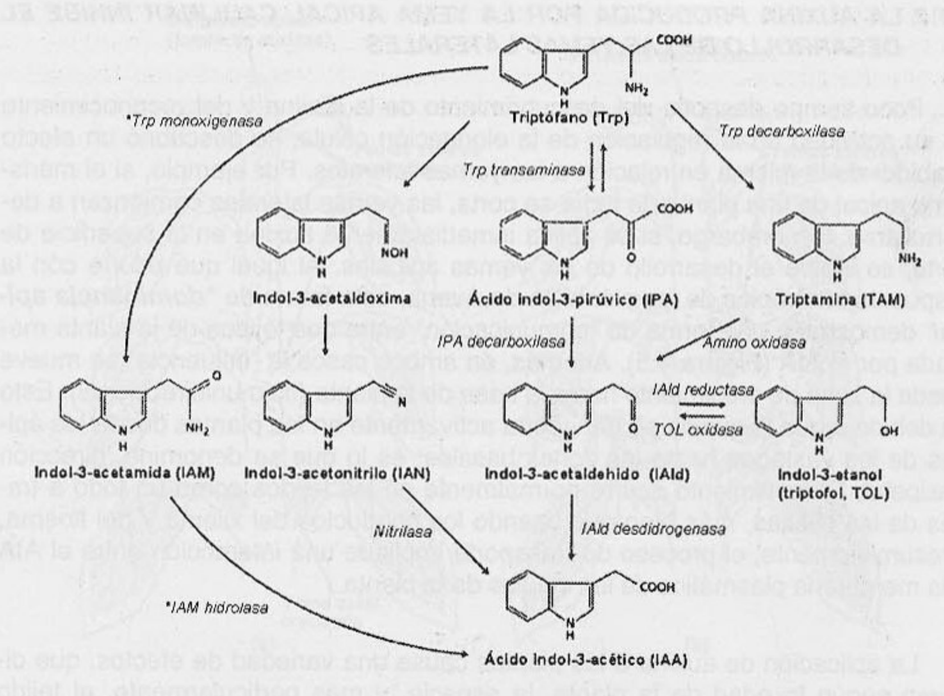


*Figura 4.3. Biosíntesis del ácido indolacético (indol 3-acetato; **auxina**) a partir de triptófano en plantas y en bacterias. Las enzimas que sólo se presentan en bacterias están marcadas con un asterisco. El NAD^+ y el $NADP^+$ se sintetizan también a partir del triptófano. [Figura tomada de **Taiz, L. and Zieger, E.**, (1998), "Plant Physiology". 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers].*

La auxina se fabrica principalmente en los meristemas apicales de los brotes y de allí se mueve a otras partes de la planta, siempre en dirección de tallo a raíz (basipetal). En el tallo la auxina es indispensable para el crecimiento. En la **Figura 4.4** podemos ver la estructura del ácido indol-3-acético y de otras auxinas naturales.

$CH_2 — COOH$ · $CH_2 — COOH$ · $CH_2 — COOH$

Ácido indol-3-acético (AIA; IAA) · Ácido 4-cloroindol-3-acético (4-Cl-IAA) · Ácido fenilacético (AFA; PAA)

Figura 4.4. Estructura de algunas auxinas naturales. Aunque el ácido indol-3-acético (AIA; IAA) se encuentra en todas las plantas, otros compuestos relacionados también poseen actividad auxínica. En guisantes, por ejemplo, aparece el ácido 4-cloroindol-3-acético (4-Cl-IAA). Otros compuestos que no son indoles, como el ácido fenilacético (AFA, PAA) también poseen actividad auxínica. No está claro el papel que juegan estas otras auxinas en el desarrollo de la planta.

4.1.2. LA AUXINA PRODUCIDA POR LA YEMA APICAL CAULINAR INHIBE EL DESARROLLO DE LAS YEMAS LATERALES

Poco tiempo después del descubrimiento de la auxina y del reconocimiento de su actividad en la regulación de la elongación célula, se descubrió un efecto inhibidor de la misma en relación a las yemas laterales. Por ejemplo, si el meristemo apical de una planta de judía se corta, las yemas laterales comienzan a desarrollarse. Sin embargo, si se aplica inmediatamente auxina en la superficie de corte, se inhibe el desarrollo de las yemas apicales. Al igual que ocurre con la respuesta fototrópica de las plántulas de Avena, esta forma de "***dominancia apical***" demostraba una forma de "comunicación" entre dos tejidos de la planta mediada por el AIA (**Figura 4.5**). Además, en ambos casos la "influencia" se mueve desde la zona de crecimiento hacia la base de la planta (flujo unidireccional). Esto es debido a que la auxina se transporta activamente en las plantas desde los ápices de los vástagos hasta las zonas basales; es lo que se denomina, dirección basipetal. El movimiento ocurre normalmente en los tejidos como un todo a través de las células, más bien que usando los conductos del xilema y del floema. Presumiblemente, el proceso de transporte implique una interacción entre el AIA y la membrana plasmática de las células de la planta.

La aplicación de auxina a las plantas causa una variedad de efectos, que difieren según la edad de la planta, la especie, y más particularmente, el tejido donde actúa. Al igual que ocurre con otros compuestos químicos fisiológicamente activos, la auxina es tóxica a altas concentraciones. El herbicida 2,4-D es una auxina sintética, una de las varias que han sido sintetizadas artificialmente para una amplia gama de aplicaciones.

4.1.3. LAS AUXINAS Y LA DIFERENCIACIÓN CELULAR

Según han demostrado experimentos efectuados por W.P. Jacobs, las auxinas influyen sobre la diferenciación del tejido vascular durante el alargamiento del tallo. Si se corta y se separa un trozo de tallo de *Coleus* de forma que se retire parte del tejido vascular del mismo, en su lugar se formarán nuevos tejidos vasculares originados por células de la médula.

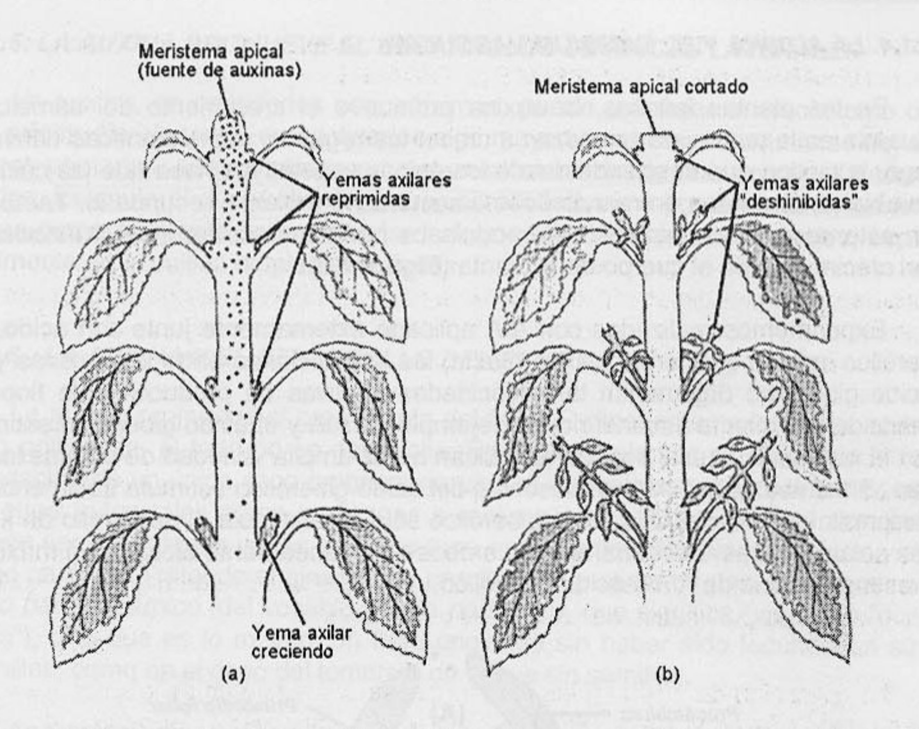


Figura 4.5. Dominancia apical en Coleus. *(a) La auxina que se sintetiza en el meristema apical caulinar se difunde hacia abajo, reprimiendo el crecimiento de las yemas axilares. Cuanto mayor sea la distancia entre el ápice y la yema axilar, menor será la concentración de auxina, y menor será la represión sobre la yema. (b) Si el meristema apical se corta, eliminándose la producción de auxina, las yemas axilares quedan desinhibidas y comienzan a crecer vigorosamente. [Figura tomada de* ***Curtis, H. y Barnes, N.S.*** *(1997). "Invitación a la Biología". Ed. Panamericana].*

Efectos parecidos se observan en los callos. Un *callo* es una masa de células indiferenciadas que se forma en las heridas de las plantas o en los cultivos de tejidos a partir de células aisladas. Si sobre un callo de tejido vascular de lila (*Syringa*) se injerta una yema, se induce la formación de tejido vascular en el callo. Igualmente, si se cultiva un callo en un medio que contiene auxina y azúcar (puesto que el callo no comprende células fotosintetizadoras), se forman tejidos vasculares. El descubrimiento que se describe a continuación, realizado por R.H. Wetmore y sus colaboradores, es bien curioso. Regulando la cantidad de azúcar en el medio, se puede inducir la formación de xilema sólo, de xilema y floema, o de floema sólo. Una concentración baja de sacarosa (del 1.5 al 2.5 %) favorece el xilema; una del 4 % favorece al floema; y una concentración comprendida entre las indicadas favorece la producción de ambas a la vez. Aquí se llega a un punto que es necesario señalar que ninguna de estas sustancias reguladoras del crecimiento *actúa sola*. Sus efectos son conseguidos, generalmente, en concomitancia con otros factores internos (tales como el azúcar disponible), unos conocidos y otros no, que actúan en el cuerpo de la planta.

4.1.4. LA AUXINA Y EL CÁMBIUM VASCULAR

En las plantas leñosas, la auxina promueve el crecimiento del cámbium. Cuando en la primavera empiezan a crecer las regiones meristemáticas del vástago, la auxina que desciende desde los ápices vegetativos hace que las células cambiales se dividan, formando floema secundario y xilema secundario. También en este caso, estos efectos son modulados por otras sustancias controladoras del crecimiento en el cuerpo de la planta (**Figura 4.6**).

Experimentos realizados con AIA aplicado externamente junto con ácido giberélico indican que, en la planta intacta, las interacciones entre las auxinas y el ácido giberélico determinan las velocidades relativas de producción de floema secundario y xilema secundario. Por ejemplo, el AIA y el ácido giberélico estimulan la actividad cambial cuando se aplican a una amplia variedad de plantas leñosas. Sin embargo, el, AIA en ausencia del ácido giberélico estimula solamente el desarrollo del xilema. Con ácido giberélico sólo, se estimula el desarrollo de floema solamente, pero el desarrollo de ambos simultáneamente alcanza un máximo con la presencia de AIA y ácido giberélico.

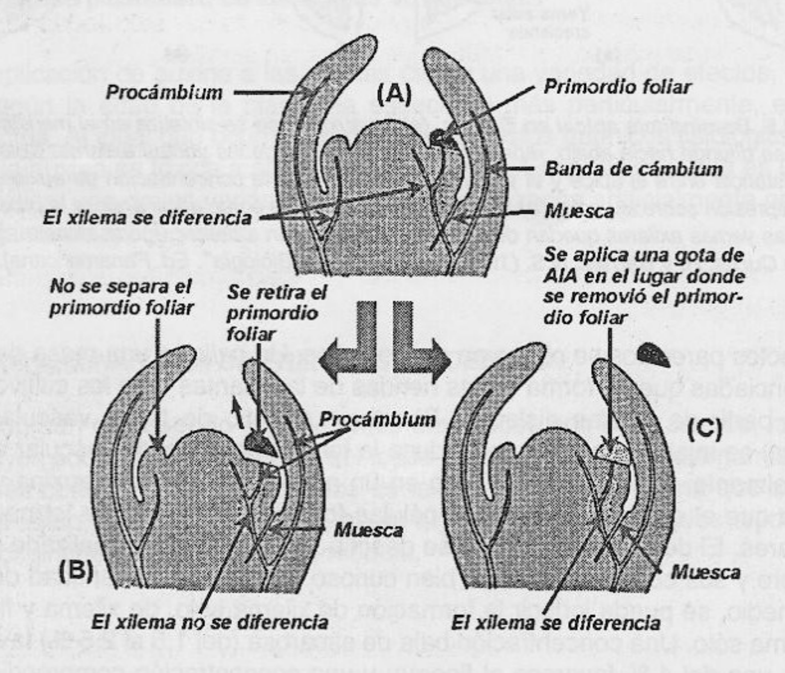


Figura 4.6. Esquema de un experimento que muestra cómo un primordio foliar proporciona un estímulo para la diferenciación del xilema en el procámbium. La muesca que separa el al procámbium aisla el tejido de interés por encima de él. (A), control con un primordio foliar intacto. (B), se ha retirado el primordio foliar. (C), se ha retirado el primordio foliar reemplazándolo con una gota de auxina. La auxina es un sustituto efectivo del estímulo del primordio. [Figura tomada de ***Rost, T. et al.*** *(1985). Botánica. Introducción a la Biología Vegetal. Ed. Limusa, México].*

4.1.5. LA AUXINA PROMUEVE EL DESARROLLO DE RAÍCES LATERALES

La auxina, en cantidades pequeñísimas, puede estimular el crecimiento de las raíces. No obstante, en cantidades algo mayores, inhibe el crecimiento de las raíces primarias, aunque puede promover la formación de nuevas raíces secundarias. Estimula el desarrollo de las raíces adventicias y por esta razón se emplean comercialmente para estimular la formación de raíces en esquejes, especialmente en el cultivo de plantas leñosas.

4.1.6. LA AUXINA Y EL DESARROLLO DEL FRUTO.¡

La auxina promueve el crecimiento del fruto. Ordinariamente, si la flor no ha sido polinizada, el fruto no se desarrolla. En algunas plantas es suficiente la fecundación de un único saco embrionario para el normal desarrollo del fruto; pero en otros frutos tales como manzanas o melones, que tienen muchas semillas, deben ser fecundadas varias de éstas para que la pared del ovario madure y se haga carnosa. Tratando el gineceo de una flor con auxina, es posible obtener un *fruto partenocárpico* (del vocablo griego *parthenos*, que significa "virgen" o "doncella"), o lo que es lo mismo, un fruto originado sin haber sido fecundadas sus semillas, como en el caso del tomate o de la uva sin semillas.

Aparentemente, las semillas en desarrollo son una fuente de auxina. En la fresa (*Fragaria ananassa*), si se extirpan las semillas durante el desarrollo del fruto, que son aquenios, éste deja por completo de crecer. Si se deja una estrecha banda de semillas, el fruto (en el caso de la fresa el receptáculo carnoso) desarrolla un cíngulo abombado en el área ocupada por las semillas. Si se aplican auxinas al receptáculo despojado de semillas, el crecimiento tiene lugar de manera normal (**Figura 4.7**).

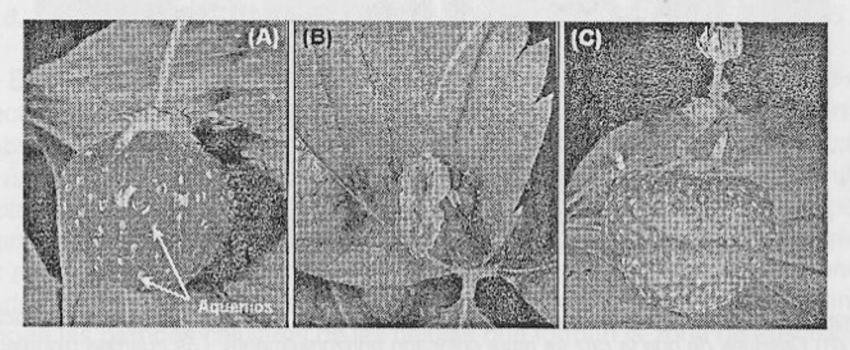


Figura 4.7. La auxina producida por el embrión que se está formando promueve la maduración de las paredes del ovario y el desarrollo de los frutos carnosos. *(A) Fresa normal (Fragaria ananassa). (b) Fresa a la que se le han extirpado las semillas. (c) Fresa a la que se le han dejado tres líneas horizontales de semillas. Si una pasta con auxina se aplica a una fresa a la que se le han extirpado las semillas, ésta se desarrolla normalmente. [Figura tomada de* ***Curtis, H. y Barnes, N.S.*** *(1997). "Invitación a la Biología". Ed. Panamericana].*

4.1.7. LA AUXINA Y EL GRAVITROPISMO

A diferencia de lo que ocurre con el estímulo luminoso unilateral, la gravedad no actúa en forma de gradiente entre las partes superiores e inferiores de un órgano. Todas las partes de una planta experimentan el estímulo gravitacional de forma semejante. ¿Cómo detectan las células de una planta la gravedad? La única forma en que la gravedad puede ser detectada es a través del movimiento de un cuerpo cayendo o en estado de reposo. Unos buenos candidatos en las células vegetales son los grandes y densos amiloplastos presentes en muchas de estas células. Estos amiloplastos son lo suficientemente densos con respecto al citoplasma donde se encuentran como para que se sedimenten en el fondo de las células debido a la gravedad (**Figura 4.8**). Los amiloplastos que las plantas emplean para detectar la gravedad se denominan **estatolitos** y se encuentran en células especiales denominadas **estatocitos**.

En las raíces, que tienen gravitropismo positivo, los estatocitos se localizan entre las células de la cofia. Siempre que la raíz esté creciendo adecuadamente, los estatolitos estarán sedimentados en las paredes basales de las células. Sin embargo, cualquier variación en la dirección del crecimiento hará que los estatolitos se desplacen hacia las paredes laterales de los estatocitos, alterando así la correcta redistribución de auxina entre las células radicales (**Figura 4.9**)

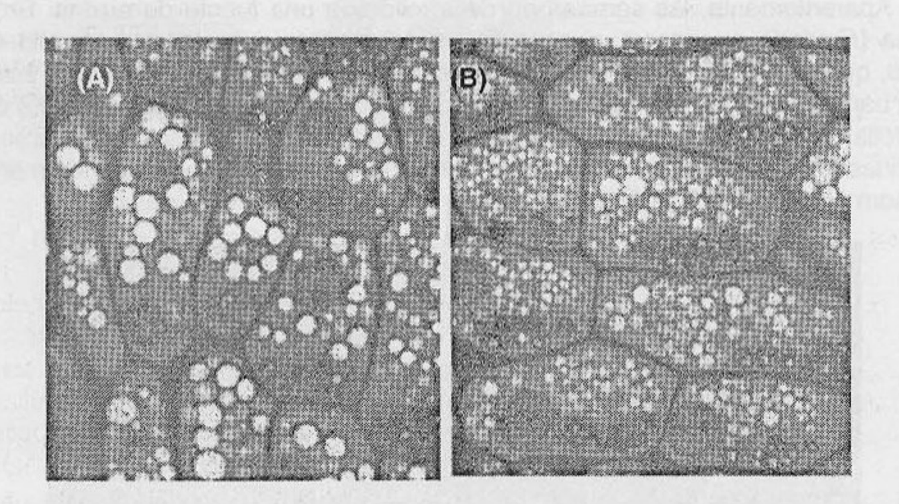


***Figura 4.8. Células centrales (estatocitos) de la caliptra. (A)** En su orientación vertical normal. **(B)** Después de que la raíz se haya colocado horizontalmente. Los cuerpos globulares oscuros que contienen almidón son los amiloplastos (**estatolitos**). Se observa como su posición en la célula cambia al variar la posición de la raíz. . [Figura tomada de **Curtis, H. y Barnes, N.S.** (1997). "Invitación a la Biología". Ed. Panamericana].*

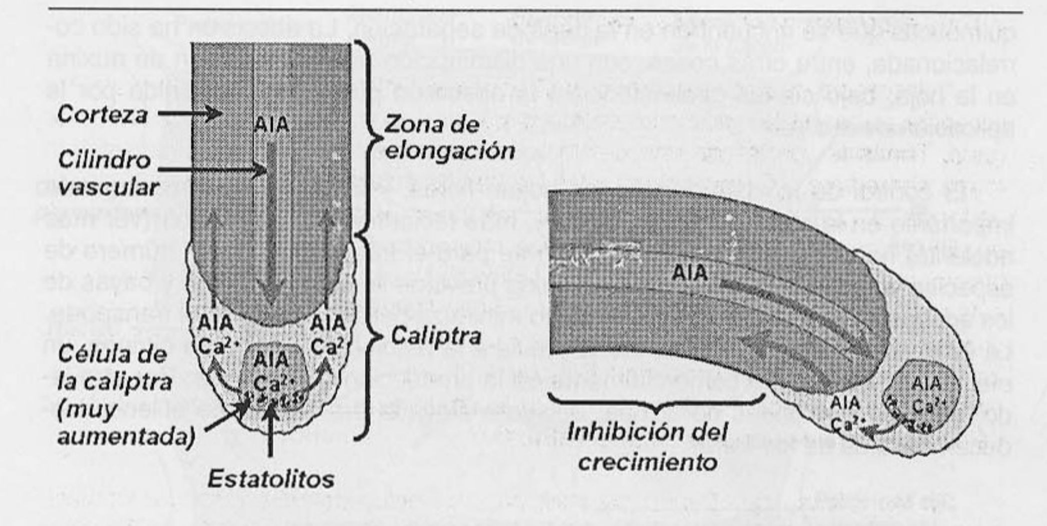


Figura 4.9. Modelo propuesto para la redistribución del calcio y de la auxina durante el gravitropismo en las raíces. *El AIA es sintetizado en el tallo y transportado basipétalamente a la raíz vía sistema vascular. Cuando la raíz está vertical, los estatolitos se depositan en la parte basal de las células de la caliptra. Los iones Ca^{2+} y la auxina (que se transportan acropetalamente en la raíz) se reparten por igual dentro de la corteza en la zona de elongación, promoviendo la elongación. Cuando la raíz está horizontalmente, los estatolitos se caen por su peso hacia las paredes laterales de las células, lo que dispara el transporte de Ca^{2+} y la auxina hacia un sola mitad de la cofia. La llegada a la corteza de concentraciones muy elevadas de auxina produce la inhibición del crecimiento y provoca la curvatura de la raíz. . [Figura modificada de* ***Taiz, L. and Zieger, E.****, (1998), "Plant Physiology". 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers].*

4.1.8. LA AUXINA RETRASA EL COMIENZO DE LA ABSCISIÓN EN HOJAS

En las hojas jóvenes se produce auxina, pero parece que ésta no tiene efecto directos sobre la velocidad de crecimiento de las hojas. En cambio, influyen sobre la abscisión (caída de las hojas o de otras partes de la planta). Las hojas caen de los árboles a causa de la formación de una *zona de abscisión*, capa peculiar de células parenquimáticas débiles y de paredes finas, en la base del pecíolo. Cuando la hoja se hace vieja, ciertos iones reutilizables y moléculas son retornadas al tallo, entre ellos los iones magnesio, aminoácidos, y azúcares (algunos derivados del almidón). Entonces, en algunas plantas al menos, diferentes enzimas rompen las paredes celulares de las células que forman la zona de abscisión. Los cambios en las paredes celulares puede incluir debilitamiento de la lamela media e hidrólisis de las fibras de celulosa. Antes de caer la hoja se desarrolla una capa de súber debajo de la zona de abscisión, que sirve para taponar la cicatriz. Eventualmente, la hoja queda sujeta al árbol solamente por unas pocas fibras de tejido vascular, que puede romperse debido al alargamiento de las células paren-

quimáticas que se encuentran en la capa de separación. La abscisión ha sido correlacionada, entre otras cosas, con una disminución de la producción de auxina en la hoja; bajo ciertas circunstancias, la abscisión puede ser prevenida por la aplicación de auxina.

El control de la abscisión de las hojas, flores, y frutos es extremadamente importante en la agricultura. La auxina y, más recientemente, el etileno (ver más adelante) han sido usados comercialmente para el tratamiento de un número de especies vegetales. Por ejemplo, la auxina previene la caída de hojas y bayas de los acebos (*Ilex aquifolium*) y por lo tanto minimiza pérdidas durante el transporte. La auxina también previene la caída previa a la recolección de frutos cítricos, un efecto muy importante comercialmente en la producción de naranjas. Por otro lado, grandes cantidades de auxina, debido a elevada producción de etileno, producen la caída de los frutos.

4.1.9. LA AUXINA Y EL CONTROL DE LAS MALAS HIERBAS

Las auxinas sintéticas han sido empleadas extensivamente para el control de las malas hierbas en las zonas agrícolas. En términos económicos, este es el mayor uso práctico que se realiza de los reguladores del crecimiento de las plantas. Aunque un número de compuestos puede ser empleado para ello, las fenoxi auxinas tales como el 2,4-D y sus derivados químicos son importantes herbicidas y representan aproximadamente el 20 % de los empleados.

4.1.10. ¿CÓMO ACTÚA LA AUXINA?

La auxina incrementa la plasticidad de la pared celular. Cuando la pared celular se ablanda, la célula se dilata debido a la presión del agua dentro de su vacuola (presión de turgencia). A medida que se reduce la presión del agua, por dilatarse la célula, ésta toma más agua y de este modo continua agrandándose hasta que la pared opone resistencia.

Según parece, el ablandamiento de la pared celular no es debido a la interacción directa entre el AIA y los constituyentes químicos de la pared. Tanto la biosíntesis del RNA como la de proteínas son necesarias para que se dé este efecto de ablandamiento; si son inhibidas, no se observa ni ablandamiento ni crecimiento. Estudios realizados en células caulinares demostraron que el AIA incrementaba la biosíntesis de celulasa, la enzima que digiere la celulosa. Los tejidos vegetales tratados con AIA tienen de 12 a 14 veces más celulasa que los no tratados, en condiciones idénticas. Así, es presumible que, por lo menos, algunos de los efectos producidos en la pared celular por la auxina provengan de la producción de nuevo RNA mensajero codificador de la celulasa, la cual rompe las trabazones que impiden el crecimiento de la pared celular (**Figura 4.10** y **4.11**).

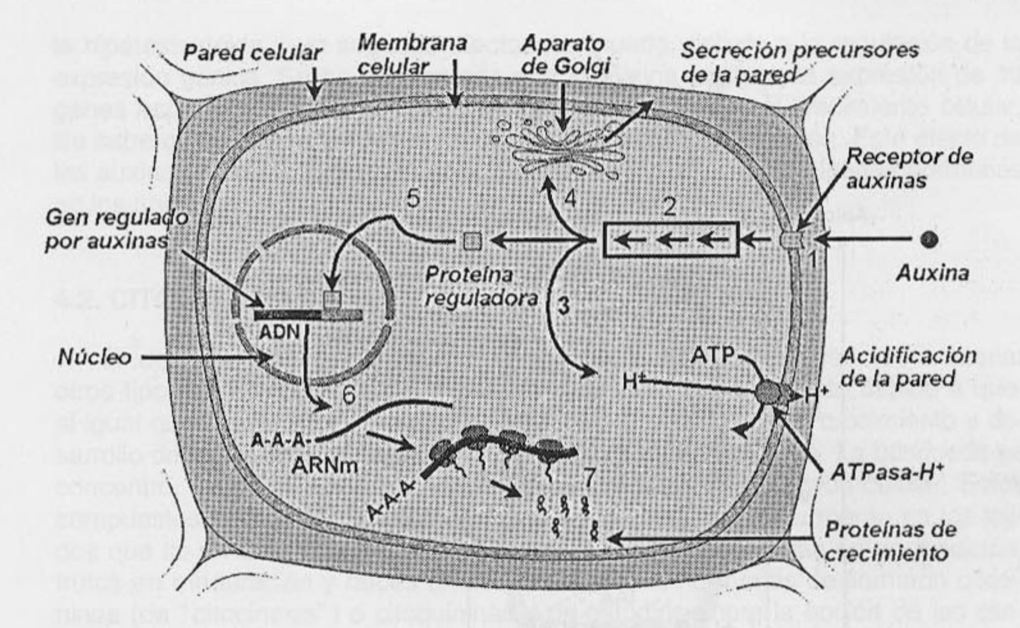


Figura 4.10. Posibles etapas en la acción de la auxina. *(1) El AIA se enlaza a un receptor de membrana específico (señalado en la membrana plasmática); (2) el complejo AIA-receptor interactúa con otros ligandos, iniciando una cadena de eventos bioquímicos; (3) las bombas de protones de la membrana se activan, acidificando la pared celular y causando su debilitamiento; (4) se estimulan la síntesis y secreción de los componentes de la pared celular; (5) proteínas reguladoras migran desde el citosol al núcleo; (6) estas proteínas se enlazan a sus sitios reguladores en genes específicos, estimulando la transcripción; (7) la traducción de los ARNm regulados por auxina conducen a proteínas que intervienen en el crecimiento celular. [Figura modificada de* ***Taiz, L. and Zeiger, E.*** *(1991). Plant Physiology. The Benjamin/Cummings Co., Inc.].*

Sin embargo, experimentos recientes han puesto de manifiesto que pueden ser detectadas respuestas de crecimiento en tejido de coleoptilo dentro de los 10 minutos posteriores a la aplicación de la auxina. Este efecto es demasiado rápido para que haya producción de nuevo ARN mensajero, responsable de la síntesis de la celulasa. Esto nos hace pensar que la producción de celulasa no es el modo de acción *primario* de la auxina sobre la pared de la célula vegetal. Uno de los efectos primarios del tratamiento con auxina implica cambios en el metabolismo celular que producen un rápido bombeo de protones a través de la membrana celular (**Figura 4.11**). La acidificación resultante de la pared celular conduce, por un mecanismo desconocido, a la hidrólisis de los puentes que unen las distintas moléculas dentro de la pared y, consecuentemente, a la elongación celular forzada por la presión de turgencia. Se han obtenido pruebas de esta *hipótesis del crecimiento ácido* recientemente y que ayudan a entender mejor el mecanismo de acción de las auxinas. Se ha comprobado el hecho de que soluciones ácidas (pH 5.0-5.5) causan una elongación similar a la producida por el tratamiento con auxinas, mientras que tampones neutros, al prevenir la acidificación, inhiben el efecto de las auxinas sobre la elongación celular.

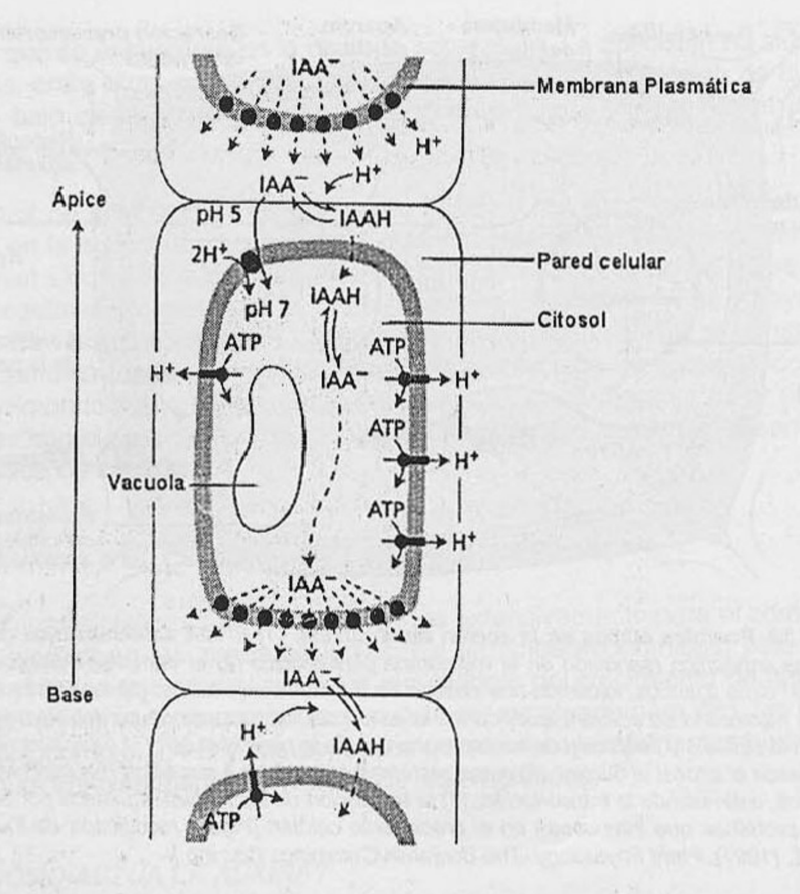


Figura 4.11. El modelo quimiosmótico del transporte polar de las auxinas se muestra en una columna de células situadas en un ápice de coleoptilo. Las bombas ATPasa-H⁺ usan la energía de los ATP para mantener un adecuado gradiente de protones y de pH entre el citoplasma y la pared celular. Esto conduce a que la pared tenga un pH ácido (5) y por tanto un exceso de cargas positivas. Ambos factores juegan un papel fundamental en el modelo quimiosmótico del transporte auxínico. Observar como los transportadores de AIA– se encuentran siempre en la zona polar de las células. La salida de protones a la pared celular actúa sobre las moléculas de celulosa de la misma. Los enlaces dentro de la pared primaria, se debilitan, y se produce una expansión celular impulsada por la turgencia. La dirección de la expansión la marca la orientación neta de las microfibrillas de la pared celular. Esta respuesta va seguida por efectos a largo plazo. [[Figura modificada de ***Taiz, L. and Zieger, E.****, (1998), "Plant Physiology". 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers].*

Aunque se piensa que esta hipótesis es la más adecuada para explicar el alargamiento inicial como respuesta al tratamiento con auxina, no puede explicar el efecto continuado de los tratamientos con auxina sobre las plantas. De hecho, muchos investigadores afirman ahora que las auxinas tienen dos efectos diferentes sobre la elongación celular: un efecto a corto tiempo, rápido, causado por

la hipótesis ácida y un segundo efecto, continuado, debido a la regulación de la expresión génica. Se ha demostrado que la auxina produce la expresión de 10 genes específicos, todos presumiblemente implicados en el crecimiento celular. Se sabe que la etapa afectada por las auxinas es la transcripción. Este efecto de las auxinas sobre la expresión génica parece ser similar al de algunas hormonas en los animales.

4.2. CITOQUININAS

El descubrimiento de la auxina estimuló a muchos investigadores a buscar otros tipos de compuestos químicos que regulasen el crecimiento debido a que, al igual que ocurre en los animales, parecía improbable que el crecimiento y desarrollo de las plantas estuviese regulado sólo por una hormona. La búsqueda se concentró, especialmente, en hormonas que regulasen la división celular. Estos compuestos se han encontrado en todas las plantas, particularmente en los tejidos que se dividen de forma activa como meristemas, semillas en germinación, frutos en maduración y raíces en desarrollo. Estas hormonas se llamaron citocininas (de "citocinesis") o citoquininas. Los estudios sobre la acción de las citoquininas en la división celular han demostrado que son necesarias en algunos procesos posteriores a la replicación del ADN pero anteriores a la mitosis.

En 1892, Wiesner propuso la existencia de factores estimulantes de la división celular, y Haberlandt, en 1913, encontró que extractos de floema podían inducir la división celular en células de parénquima. En la década de los 40, primero Johannes van Overbeek, y más tarde F.C. Steward y sus colaboradores, habían demostrado que la leche de coco (líquido producido por el endospermo) era una rica fuente de sustancias que estimulaban el crecimiento en los cultivos de tejidos.

4.2.1. MILLER Y SKOOG DESCUBRIERON LA KINETINA, UNA CITOQUININA ARTIFICIAL

En 1955, tras experiencias previas realizadas con ADN de esperma de arenque, Folke Skoog y Carlos Miller consiguieron preparar por tratamiento térmico de ADN un compuesto, el 6-furfurilamino purina, que promovía la división celular. Denominaron a esta sustancia *kinetina* y llamaron a los reguladores que se incluían dentro de este grupo **citocininas (citoquininas)**, debido, como dijimos anteriormente, a su aparente implicación en los procesos de citocinesis, o división celular. Como se observa en la **Figura 4.12**, la kinetina se parece a la base púrica adenina, que fue la clave que condujo a su descubrimiento. La kinetina, que probablemente no existe en las plantas de modo natural, tiene una estructura relativamente simple, y los bioquímicos han sido capaces de sintetizar una gran variedad de otros compuestos relacionados que se comportan como citoquininas.

En 1964, Letham y sus colaboradores aislaron una citoquinina natural a partir de semillas de maíz (*Zea mays*), a la que denominaron *zeatina*, la cual es la citoquinina natural más activa que se conoce. Actualmente se han aislado citoquininas de muchas especies diferentes de plantas, donde se encuentran, fundamentalmente, en órganos cuyos tejidos se están dividiendo de forma activa, es decir, en semillas, frutos, y raíces. Recientemente, las citoquininas se han identificado en dos plantas vasculares sin semilla, un equiseto (*Equisetum arvense*) y el helecho *Dryopteris crassirhizoma*.

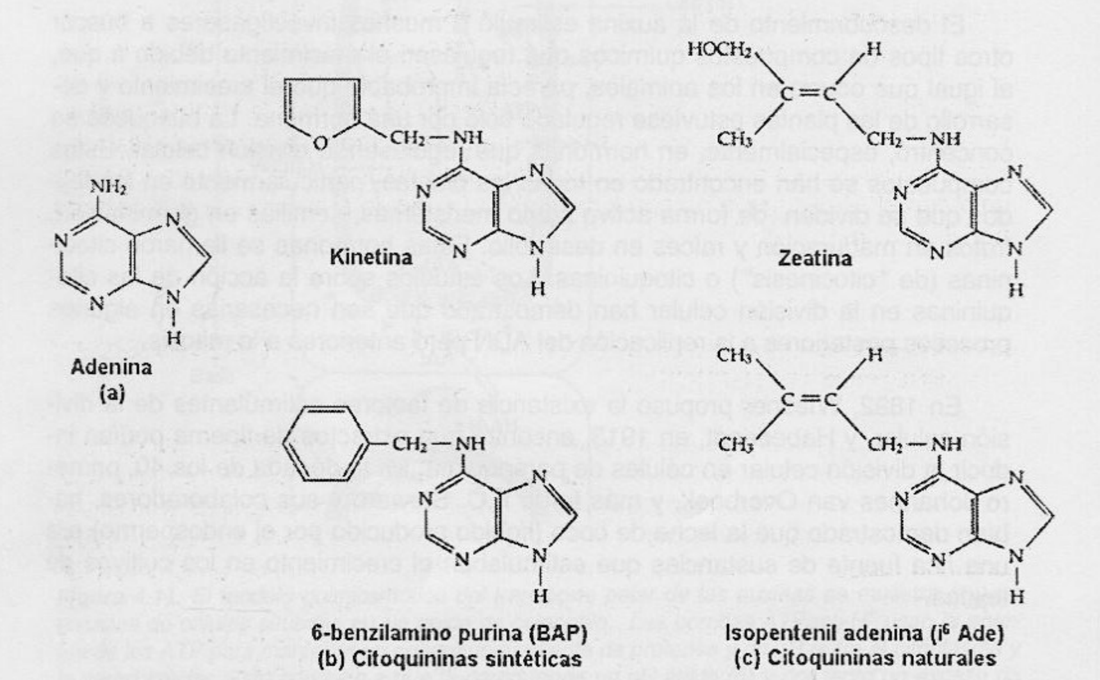


Figura 4.12. *Notar las similitudes entre la purina adenina y estas cuatro citoquininas. La kinetina y la 6-benzilamino-purina (BAP) son citoquininas sintéticas comúnmente usadas. La Zeatina y la i^6Ade se han aislado de plantas. [Figura tomada de* ***Raven, P.H. and Eichhorn, S.E.*** *(1999). Biology of Plants. 6th ed., W.H. Freeman and Company. Worth Pub.].*

Aunque las aplicaciones prácticas de las citoquininas no son tan extensivas como las de la auxina, tienen importancia en la investigación del desarrollo de las plantas. Considerando que las citoquininas juegan un papel fundamental en el desarrollo de los cultivos de tejidos, tendrán un papel extremadamente importante en el futuro de la Biotecnología. El tratamiento de yemas laterales con citoquininas causa a menudo el crecimiento de las mismas, aun en presencia de auxina, modificando por ello la dominancia apical.

4.2.2. LAS CITOQUININAS REGULAN EL CICLO CELULAR

Los estudios de las interacciones que envuelven a la auxina y a las citoquininas están ayudando a los fisiólogos a entender cómo las hormonas de las plantas (fitohormonas) trabajan para producir el patrón de crecimiento global de cada planta. Es obvio que una célula vegetal indiferenciada tiene dos opciones: bien puede alargarse, dividirse, alargarse, y volverse a dividir de nuevo, o bien puede alargarse sin sufrir posteriores divisiones. Las células que se dividen repetidamente permanecen esencialmente indiferenciadas, o meristemáticas, mientras que las células que se alargan tienden a diferenciarse, o especializarse. En estudios realizados con tallos de tabaco, la adición de AIA a los cultivos de tejidos produjo una rápida expansión celular, por lo que se formaron células gigantes. La adición de kinetina sola tuvo poco o ningún efecto. El AIA más la kinetina produjo una rápida división celular, por lo que se produjo un gran número de células relativamente pequeñas e indiferenciadas. En otras palabras, la adición de kinetina, junto con el AIA (aunque no con kinetina sólo) condujo a las células a un estado meristemático.

4.2.3. LA RELACIÓN AUXINA/CITOQUININA REGULA LA MORFOGÉNESIS EN CULTIVOS DE TEJIDOS

Alterando ligeramente las concentraciones relativas de auxina y citoquinina, los investigadores han podido modificar el desarrollo de las células indiferenciadas de los cultivos de tejidos. Una concentración más o menos igual de las dos hormona, hace que las células sigan indiferenciadas, formando masas de tejido llamadas callos. Cuando la concentración de auxina es superior, el tejido indiferenciado organiza raíces. Con una concentración superior de citoquinina, se forman yemas. Con un cuidadoso equilibrio de las dos hormonas se puede producir raíces y yemas, y por lo tanto, una plantita incipiente. (**Figura 4.13**).

En otros estudios realizados en cultivo de tejidos, usando tejido de tubérculo de la aguaturna (*Helianthus tuberosus*), se descubrió que un tercer componente, el ión calcio, puede modificar la acción de la combinación auxina-citoquinina. En estos estudios, el AIA más bajas concentraciones de kinetina conducían a un alargamiento celular, pero cuando se añadía Ca^{2+} al cultivo se inhibía el alargamiento para favorecerse el proceso de división celular. Altas concentraciones de calcio prevenían la expansión de la pared celular, por lo que las células no crecían y cambiaban su ciclo al de división celular. Es por ello, que no sólo las hormonas modifican los efectos de otras hormonas, sino que estos efectos combinados son a su vez modificados por factores no hormonales, tales como el calcio.

4.2.4. LAS CITOQUININAS RETRASAN LA SENESCENCIA (ENVEJECIMIENTO)

Otra función, al parecer independiente, de las citoquininas es la de prevenir la senescencia o envejecimiento de las hojas. En la mayoría de las especies de plantas, las hojas comienzan a volverse amarillas tan pronto como se extraen de la planta. Este amarilleamiento, el cual se debe a la pérdida de clorofila, puede prevenirse usando citoquininas. Las hojas de cadillo (*Xanthium strumarium*), por ejemplo, cuando son arrancadas y dejadas en agua del grifo, se vuelven amarillentas en el término de unos 10 días. Si se añade una pequeña cantidad de kinetina (10 mg por litro) al agua, se conserva gran parte de la clorofila y, en consecuencia, la apariencia fresca de la hoja. Si las hojas arrancadas son rociadas con soluciones de kinetina, las zonas mojadas permanecen verdes, mientras que el resto de la hoja se amarillea. No obstante, si la hoja rociada con citoquininas contiene aminoácidos radiactivos marcados con ^{14}C, se puede ver que los aminoácidos emigran hacia las zonas que han sido tratadas con citoquininas. Tales estudios, que han sido llevados a cabo sobre rábanos y otras plantas, propician la hipótesis de que el envejecimiento en las hojas, y probablemente en otras partes de la planta, resulta del progresivo "despido" de fragmentos de DNA, y de la consiguiente mengua en la producción de RNAm y en la síntesis de proteínas. Estas investigaciones sugieren la hipótesis de que las citoquininas previenen la pérdida de fragmentos de DNA, permitiendo así que continúe la síntesis de enzimas y la producción de otros compuestos tales como la clorofila.

Una interpretación de la prevención por las citoquininas de la senescencia en hojas arrancadas es la de que las hojas normalmente no sintetizan suficiente citoquininas como para satisfacer sus propios requerimientos. Por esto, una cuestión importante y todavía sin resolver implica al lugar o lugares de producción de las citoquininas dentro de las plantas. Basándose en algunas líneas de evidencia, una posible localización es la raíz. Un segundo lugar podría ser la zona de elongación situada debajo del ápice caulinar.

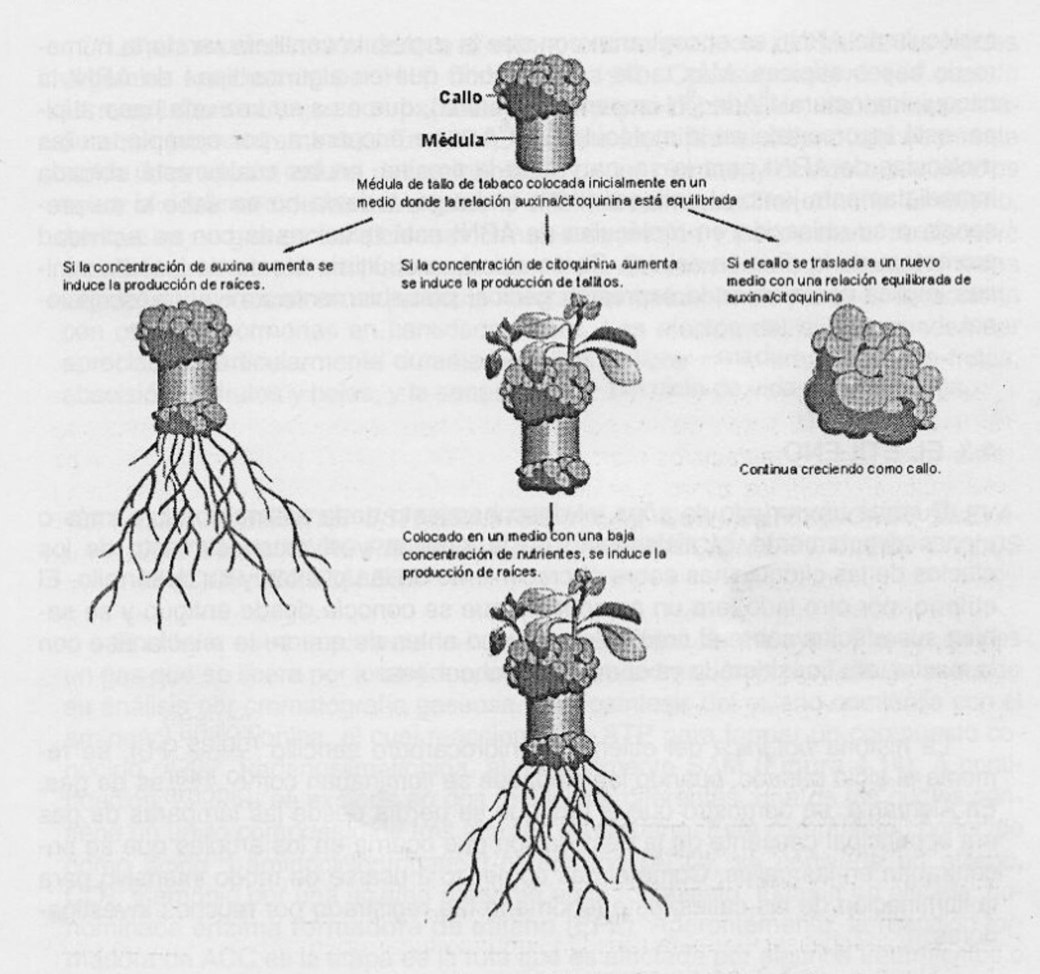


Figura 4.13. Esquema del control de la diferenciación ejercido por la interacción de la auxina con las citoquininas. Las piezas de los tejidos de la médula del tabaco se cultivaron asépticamente en un medio nutritivo (cultivo de tejidos) completando varias con varias concentraciones de dos hormonas. Según las proporciones relativas de auxina y citoquinina, el callo de varias especies de plantas continuará creciendo como tejido sin diferenciar, y podrá formar raíces o formar yemas y tallos. [Figura modificada de ***Rost, T. et al.*** *(1998). Plant Biology. Wadsworth Publishing Company].*

4.2.5. ¿CUÁL ES EL MODO DE ACCIÓN DE LAS CITOQUININAS?

Desde el primer aislamiento de citoquininas a partir de muestras de ácidos nucleicos, los fisiólogos vegetales han sospechado siempre que estas hormonas han de estar de algún modo relacionadas con los ácidos nucleicos. Cuando Holley y sus colaboradores desvelaron por primera vez la estructura de una

molécula de ARNt, se encontraron con que la molécula contenía un cierto número de bases atípicas. Más tarde se descubrió que en algunos tipos de ARNt la citoquinina natural i^6Ade (^{6}N-isopenteniladenina), que es a su vez una base atípica, está incorporada en la molécula. La i^6Ade se encuentra, por ejemplo, en las moléculas de ARNt para la serina y para la tirosina, en las cuales está ubicada inmediatamente junto al anticodón. Sin embargo, todavía no se sabe si su presencia o su ubicación en moléculas de ARNt está relacionada con su actividad promotora de la división celular. Se conoce que el último efecto de las citoquininas implica cambios en la expresión génica, probablemente a nivel transcripcional.

4.3. EL ETILENO

Durante un período de años, el descubrimiento de la auxina condujo, más o menos directamente, al aislamiento de la kinetina y el reconocimiento de los efectos de las citoquininas sobre el crecimiento de las plantas y su desarrollo. El **etileno**, por otro lado, era un compuesto que se conocía desde antiguo y se sabían sus efectos sobre el crecimiento mucho antes de que se le relacionase con la auxina; era considerado ya como una fitohormona.

La historia *botánica* del etileno, un hidrocarburo sencillo ($H_2C{=}CH_2$), se remonta al siglo pasado, cuando las ciudades se iluminaban con lámparas de gas. En Alemania, se demostró que el gas que se perdía desde las lámparas de gas era el principal causante de la desfoliación que ocurría en los árboles que se encontraban en las calles. Como el gas comenzó a usarse de modo intensivo para la iluminación de las calles, este fenómeno fue registrado por muchos investigadores.

En 1901, D. Neljubov demostró que el etileno era el componente activo del gas que se empleaba en iluminación. Neljubov notó que la exposición de plántulas de guisante a dicho gas en oscuridad (plantas etioladas) reducía el elongamiento del tallo, incrementaba el crecimiento lateral, y producía un anormal crecimiento horizontal de la plántula (gravitropismo negativo), condiciones que más tarde se denominaron la *triple respuesta*. Cuando los componentes gaseosos del gas fueron probados individualmente se demostró que todos eran inactivos excepto el etileno, que producía la triple respuesta a concentraciones tan bajas como 0.06 partes por millón (ppm) en el aire. Los descubrimientos de Neljubov han sido confirmados por muchos otros investigadores, y se sabe que el etileno ejerce una influencia principal sobre la mayoría, sino todos, los aspectos del crecimiento, desarrollo, y senescencia de las plantas.

La primera indicación de que el etileno era un producto natural de los tejidos vegetales fue descrita por H.H. Coussin en 1910. Coussin observó que cuando se mezclaban naranjas con bananas en el mismo contenedor, las bananas maduraban prematuramente. En 1934, R. Gane identificó al etileno químicamente como un producto natural del metabolismo de las plantas, y debido a sus efectos sobre el desarrollo de las mismas se le clasificó como una fitohormona. El etileno, aunque es un gas en condiciones normales de presión y temperatura, se disuelve en cierto grado en el citoplasma de las célula. Se considera como una hormona vegetal debido a que es un producto natural del metabolismo y a que interacciona con otras fitohormonas en cantidades traza. Los efectos del etileno pueden ser apreciados particularmente durante períodos críticos —maduración de los frutos, abscisión de frutos y hojas, y la senescencia— del ciclo de vida de una planta.

4.3.1. LOS AMBIENTES ESTRESANTES Y LAS CONCENTRACIONES ELEVADAS DE AUXINAS PROMUEVEN LA PRODUCCIÓN DE ETILENO EN LOS TEJIDOS VEGETALES

El etileno es normalmente la hormona más fácil de ensayar. Puesto que es un gas que se libera por los tejidos, no requiere extracción ni purificación antes de su análisis por cromatografía gaseosa. La biosíntesis del etileno comienza con el aminoácido metionina, el cual reacciona con ATP para formar un compuesto conocido como S-adenosilmetionina, abreviadamente SAM (**Figura 4.14**). A continuación, el SAM se excinde en dos moléculas diferentes, una de las cuales contiene un anillo compuesto de tres átomos de carbono. Este compuesto, conocido como ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), se convierte en etileno, CO_2, y amonio por una enzima presente en el tonoplasto, todavía no aislada, denominada **enzima formadora de etileno (EFE)**. Aparentemente, la reacción formadora de ACC es la etapa de la ruta que es afectada por algunos tratamientos o estados fisiológicos (por ejemplo, altas concentraciones de auxina, heridas, polución atmosférica, maduración de los frutos, senescencia de las flores, encharcamiento, etc.) que estimulan la producción de etileno por los tejidos vegetales.

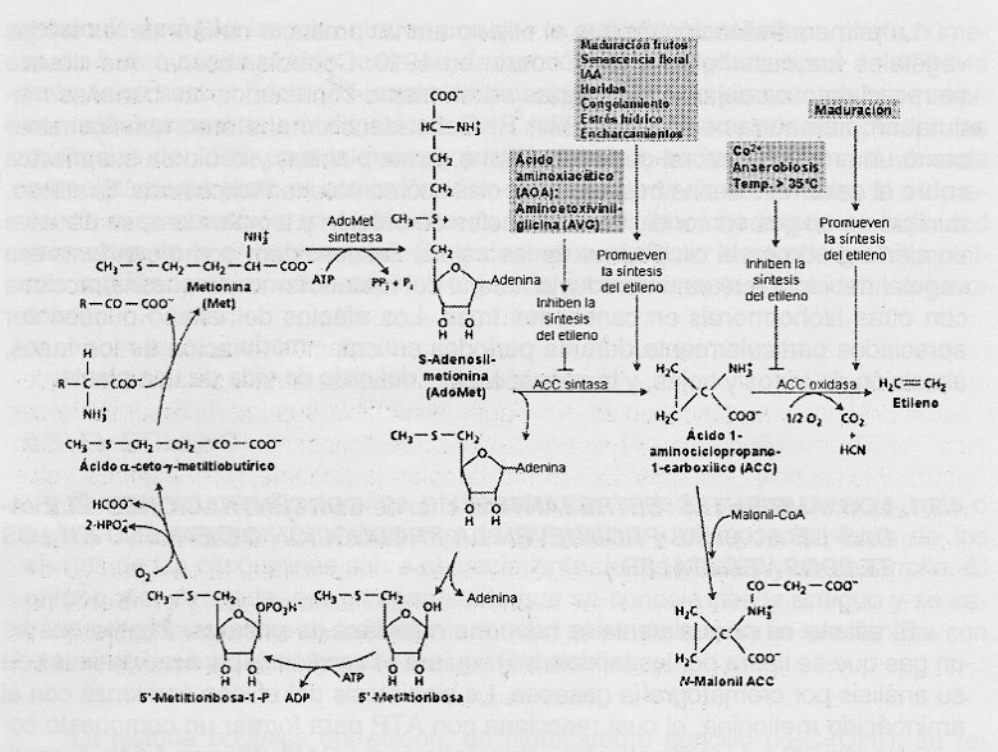


Figura 4.14. Biosíntesis del etileno y su regulación. *El aminoácido metionina es el precursor del etileno en los tejidos de todas las plantas superiores. La etapa limitante de la ruta biosintética es la conversión de la S-adenosilmetionina (SAM) en el intermediario precursor del etileno, el ácido 1-aminociclopropano-1- carboxílico (ACC), etapa catalizada por la ACC sintasa. Otras abreviaturas: AVG, aminoetoxivivilglicina; AOA, acido aminooxiacetico. [Figura modificada de* ***Taiz, L. and Zeiger, E.*** *(1998). Plant Physiology. 2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers].*

4.3.2. EL ETILENO Y LA MADURACIÓN DE LOS FRUTOS

La maduración de los frutos engloba un número de cambios (ver **tabla 4.1**). En los frutos carnosos baja el contenido en clorofila, pudiéndose formar otros pigmentos, causantes del cambio de color del fruto. Al mismo tiempo, se ablanda la parte carnosa del fruto. Ello es el resultado de la digestión enzimática de la pectina, componente principal de la lámina media. Cuando la lámina media se debilita, las células pueden deslizarse unas sobre otras. También durante este período, los almidones y los ácidos orgánicos o, como en el caso del aguacate (*Persea americana*), los azúcares son metabolizados a azúcares. A consecuencia de estos cambios, los frutos se vuelven grandes y sabrosos y, por tanto, atractivos para los animales que los comen y que, indirectamente, diseminan las semillas.

Durante la época de maduración de muchos frutos —**incluyendo tomates,** aguacates y peras— **hay un gran incre**mento en la respiración celular, manifestado por un mayor consumo de oxígeno. Esta fase se conoce como ***climaterio***, y los frutos que la desarrollan, *frutos climatéricos.* (Los frutos que muestran una maduración gradual, tales como los cítricos, uvas, y fresas, se denominan *frutos no climatéricos*). Ver **tabla 4.2**. Cuando frutos climatéricos inmaduros se tratan con etileno, se acelera el comienzo del climaterio. Cuando frutos no climatéricos se tratan de la misma forma, la magnitud de la tasa respiratorio se incrementa en función de la concentración de etileno, pero el tratamiento no dispara la producción endógena de etileno y por lo tanto no se acelera la maduración. No se conocen las relaciones entre el climaterio y los demás aspectos de la maduración, pero cuando se reduce la intensidad de la fase climatérica queda detenida la maduración del fruto. Un descenso en el oxígeno disponible suprime la respiración celular, razón por la cual las frutas y verduras se "conservan" más cuando son guardadas en bolsas de plástico. El frío también la suprime, y en algunos frutos frena de una manera permanente del climaterio; de aquí que se aconseje a veces guardar los plátanos en la nevera. Los frutos pueden ser almacenados durante largos períodos de tiempo bajo vacío. Bajo tales condiciones, la cantidad de oxígeno disponible es mínima, lo que suprime la respiración celular, y el etileno, que acelera el comienzo del climaterio, se mantiene en niveles bajos. Después del climaterio ya viene el envejecimiento, y los frutos se vuelven susceptibles a las invasiones de hongos y otros microorganismos.

Tabla 4.1. *Cambios que tienen lugar en el fruto durante su maduración.*

Tipo de cambio	Consecuencias	
FÍSICO	Color	- Pérdida de clorofila; desmantelamiento del aparato fotosintético. - Acumulación de carotenoides: β-Caroteno, Licopeno, ... - Síntesis de pigmentos antociánicos.
	Textura	- Alteraciones en la composición de las paredes celulares. - Solubilización de celulosa y pectinas. - Degradación del almidón.
	Aroma y sabor	- Acumulación de azúcares y ácidos orgánicos. - Producción de compuestos volátiles.
METABOLISMO	- Aumento respiratorio. - Síntesis y producción de etileno. - Metabolismo del almidón y de los ácidos grasos. - Alteración en la regulación de rutas metabólicas.	
EXPRESIÓN GÉNICA	- Desaparición de ARNm y proteínas sintetizadas antes de iniciarse la maduración. - Aparición de nuevos ARN específicos para la maduración. - Síntesis *de novo* de enzimas que catalizan cambios típicos de la maduración.	

Tabla 4.2 Ejemplos de algunos frutos climatéricos y no climatéricos.

Climatéricos	No climatéricos
Manzanas	Cereza
Aguacate	Limón
Banana	Naranja
Chirimoya	Uva
Higo	Piña
Mango	Fresa
Aceituna	Sandía
Albaricoque	Judía
Pera	Calabaza
Tomate	Pomelo
Ciruela	Mandarina

En los primeros años de la década de 1900, muchos fruticultores hacían un tratamiento para mejorar el color de los frutos cítricos, consistente en "curarlos" en un recinto con una estufa de queroseno. (Mucho antes de esto, los chinos solían madurar las frutas en estancias donde se quemaba incienso). Durante mucho tiempo se creyó que era el calor el causante de la maduración de los frutos. Fruticultores ambiciosos que instalaron modernos equipos calefactores constataron con pesar que no era así. Diversos experimentos han demostrado que los responsables son, en realidad, los productos resultantes de la combustión del queroseno. De estos gases producidos, el más activo es el etileno. Tan sólo una parte por millón de etileno en el aire hace adelantar el comienzo del climaterio.

En la actualidad se ha encontrado etileno en frutos (en todos los analizados, sin excepción), flores, hojas, tallos con hojas y raíces de muy diversas especies, y también en ciertos tipos de hongos. El efecto del etileno sobre la maduración de los frutos tiene importancia agrícola. Un uso importante del etileno es el de la maduración de tomates que son recolectados verdes y almacenados en ausencia de etileno y tratados con éste justo antes de su comercialización. Se emplea también en la maduración de nueces y uvas.

4.3.3. EL ETILENO Y LA ABSCISIÓN

El etileno promueve la abscisión (caída) de hojas, flores, y frutos en una gran variedad de especies. En las hojas, el etileno probablemente dispara las enzimas (celulasas y poligalacturonasas) que causan la disolución de la pared celular asociada con la abscisión (**Figura 4.15**). El etileno parece ser el primer regulador de los procesos de abscisión en las plantas, actuando la auxina como un supresor de este efecto. La disminución de la concentración de auxina libre en un órgano incrementa la respuesta al etileno de células diana específicas. Estas células

diana, localizadas en las zonas de abscisión, producen como resultado gran cantidad de enzimas hidrolíticos que degradan los polisacáridos y las proteínas presenten en las paredes celulares, lo que conduce a la pérdida de éstas, la separación celular y, finalmente, a la abscisión. El etileno es empleado comercialmente para promover la separación de los frutos en cerezos, zarzamoras, y uvas, haciendo por ello posible la recolección mecánica de los mismos.

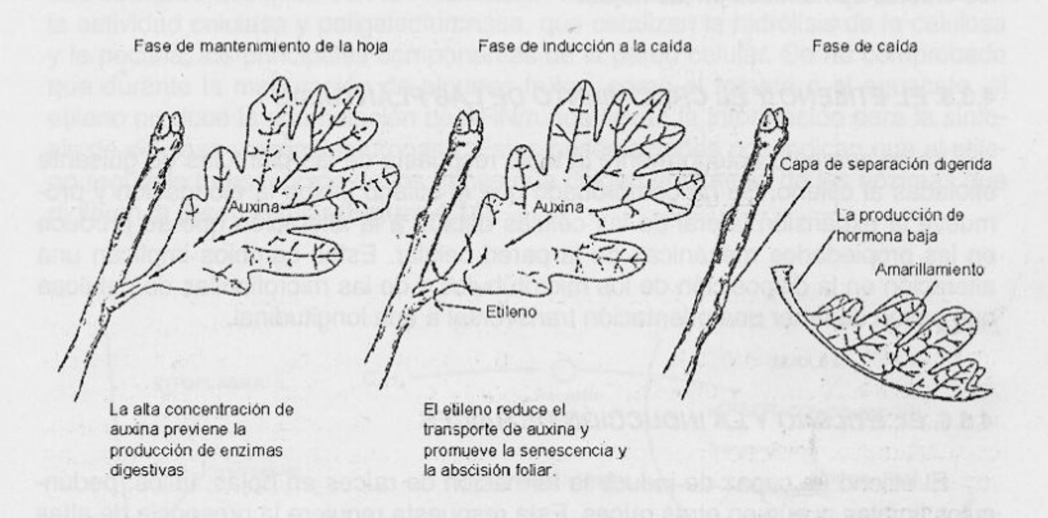


***Figura 4.15. Esquema del balance hormonal durante la abscisión de una hoja.** De acuerdo a este modelo, la auxina favorece la persistencia de la hoja durante la fase de mantenimiento. En la fase de inducción a la abscisión, el nivel de auxina disminuye, mientras que el nivel de etileno aumenta. Estos cambios en el equilibrio hormonal, incrementan la sensibilidad de las células diana al etileno, lo cual dispara los acontecimientos que aparecen en la fase de separación. Durante esta etapa, enzimas específicos segregados por las células diana hidrolizan los polisacáridos de las pared celular, lo cual conduce, finalmente, a la abscisión de la hoja. [Figura modificada de **Taiz, L. and Zeiger, E.** (1991). Plant Physiology. The Benjamin/Cummings Co., Inc.].*

4.3.4. EL ETILENO Y LA EPINASTIA

La curvatura hacia abajo y el enrollamiento que se produce en algunas hojas cuando el lado adaxial (haz) crece más que el lado abaxial (envés) se denomina epinastia. El etileno y altas concentraciones de auxina inducen epinastia. El encharcamiento o las condiciones anaerobias que pueden producirse alrededor de las raíces de algunas plantas (tomate, por ejemplo) disparan la síntesis de etileno en el tallo, lo que produce una respuesta epinástica. Puesto que este estímulo ambiental se detecta en las raíces y la respuesta al mismo se produce en los tallos, algún tipo de "señal" debe ser transmitidos desde las raíces a los tallos. Esta

señal es el ACC, el precursor inmediato del etileno. Se ha encontrado que los niveles de ACC son significativamente más altos en el xilema radical de las raíces de tomate que sufren encharcamiento durante 1-2 días. Debido a que el agua impide la correcta difusión de oxígeno hasta las células de la raíz, el ACC producido no puede convertirse en etileno en esta zona de la planta, por lo que es transportado al tallo. En el tallo, al entrar en contacto con el oxígeno, rápidamente se transforma en etileno que es liberado al aire y, como consecuencia, produce los efectos epinásticos en las hojas.

4.3.5. EL ETILENO Y EL CRECIMIENTO DE LAS PLÁNTULAS

Ya se comentó anteriormente la triple respuesta de las plántulas de guisante etioladas al etileno. Se ha comprobado que el etileno inhibe la elongación y promueve la expansión lateral de las células debido a la alteración que se produce en las propiedades mecánicas de la pared celular. Estos cambios implican una alteración en la disposición de los microtúbulos y de las microfibrillas de celulosa que pasan de tener una orientación transversal a una longitudinal.

4.3.6. EL ETILENO Y LA INDUCCIÓN DE RAÍCES

El etileno es capaz de inducir la formación de raíces en hojas, tallos, pedúnculos florales, y aún en otras raíces. Esta respuesta requiere la presencia de altas concentraciones de etileno en el medio (10 µl/L).

4.3.7. EL ETILENO Y LA INDUCCIÓN DE FEMINIDAD EN FLORES DE PLANTAS MONOICAS

El etileno parece jugar un papel importante en la determinación del sexo de las flores en plantas monoicas (aquéllas que tienen flores masculinas y femeninas sobre el mismo individuo). En las cucurbitáceas (familia *Cucurbitaceae*), por ejemplo, altos niveles de giberelinas están asociados son masculinidad, y tratamientos con etileno cambian la expresión del sexo hacia feminidad. En estudios realizados sobre pepinos (*Cucumis sativus*), se encontró que las yemas femeninas liberaban cantidades de etileno mucho mayores que las yemas masculinas. Además, los pepinos que crecen bajo períodos de luz de días cortos (ver Unidad Didáctica siguiente), que promueve la feminidad, liberan más etileno que aquellos que se crecen bajo condiciones de día largo. Por todo ello, en los pepinos, el etileno participa aparentemente en la regulación de la expresión sexual y está asociado con la promoción de la feminidad.

4.3.8. EN LA ACTUALIDAD, TODAVÍA NO SE ENTIENDE PERFECTAMENTE EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL ETILENO

La maduración de los frutos es el proceso más complejo de los regulados por el etileno. La maduración comprende una serie de cambios metabólicos que se traducen en cambios en la textura del fruto, el color, y el sabor, así como otros cambios que conducen a la senescencia del fruto. El debilitamiento de las paredes celulares asociado con la maduración se correlaciona con un incremento en la actividad celulasa y poligalacturonasa, que catalizan la hidrólisis de la celulosa y la pectina, los principales componentes de la pared celular. Se ha comprobado que durante la maduración de algunos frutos, como el tomate o el aguacate, el etileno produce la acumulación de ARNm que llevan la información para la síntesis de celulasa y poligalacturonasa. Estas observaciones nos indican que el etileno regula la transcripción de los genes que dirigen la síntesis de las enzimas que digieren la pared celular (**Figura 4.16**).

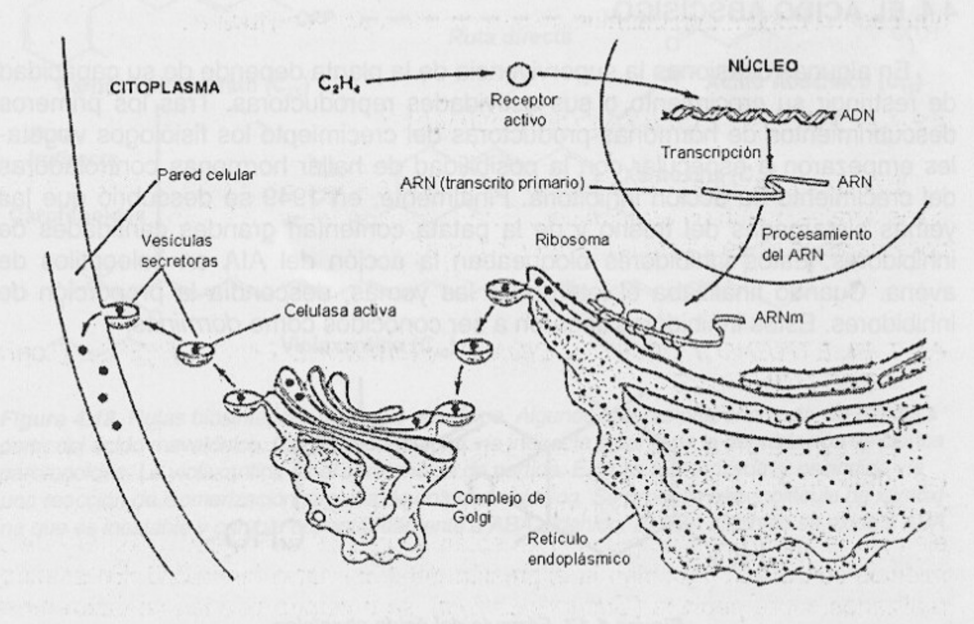


Figura 4.16. Modelo hipotético para la síntesis de celulasa inducida por etileno durante el proceso de maduración de un fruto. *La hidrólisis de la pared celular, etapa básica en el proceso de maduración de los frutos se incrementa con la actividad celulasa. Un incremento es esta actividad se produce como consecuencia de la acumulación celular de ARNm de celulasa inducidos por efecto del etileno. Este modelo describe la secuencia de eventos que incluyen entre otros: la unión del etileno, una señal de transducción, la transcripción del gen de la celulasa y la producción del ARNm, y la síntesis de celulasa que es finalmente segregada al exterior de la pared celular. [Figura modificada de* ***Taiz, L. and Zeiger, E.*** *(1991). Plant Physiology. The Benjamin/Cummings Co., Inc.].*

4.3.9. EL ETILENO TIENE IMPORTANTES USOS COMERCIALES

El etileno es una de las fitohormonas más ampliamente utilizadas en agricultura. Las auxinas y el ACC pueden disparan la biosíntesis natural del etileno y en algunos casos se emplean en la práctica agrícola. Debido a su alta velocidad de difusión, el etileno es difícil de aplicar en el campo como gas, pero esta limitación se soslaya utilizando algún compuesto que libere etileno. El compuesto químico más ampliamente utilizado es el ethephon o ácido 2-cloroetilfosfónico (nombre comercial Ethrel). El ethephon en solución acuosa es fácilmente absorbido y transportado al interior de la planta. Este compuesto libera etileno lentamente lo que permite a esta fitohormona ejerces sus efectos. De esta manera, la aplicación de ethephon produce la maduración de manzanas y tomates, así como el cambio de color en cítricos, y acelera la abscisión de flores y frutos. También se emplea para promover la feminidad en cucurbitáceas, para prevenir la auto-polinización e incrementar su producción.

4.4. EL ÁCIDO ABSCÍSICO

En algunas ocasiones la supervivencia de la planta depende de su capacidad de restringir su crecimiento o sus actividades reproductoras. Tras los primeros descubrimientos de hormonas productoras del crecimiento los fisiólogos vegetales empezaron a especular con la posibilidad de hallar hormonas controladoras del crecimiento de acción inhibitoria. Finalmente, en 1949 se descubrió que las yemas aletargadas del fresno y de la patata contenían grandes cantidades de inhibidores. Estos inhibidores bloqueaban la acción del AIA en coleoptilos de avena. Cuando finalizaba el letargo de las yemas, descendía la proporción de inhibidores. Estos inhibidores llegaron a ser conocidos como *dorminas*.

HO O CHO

Figura 4.17. *Fórmula del ácido abscísico.*

Durante la década de los años 1960, varios investigadores notificaron el descubrimiento, en hojas y frutos, de sustancias capaces de acelerar la abscisión. Una de ellas, que fue denominada *abscisina*, fue identificada químicamente. En 1965 también fue identificada una de las dorminas, y se vio que tanto la abscisina como la dormina correspondían a un mismo compuesto. Este compuesto se conoce actualmente como ***ácido abscísico*** **(Figura 4.17)**.

El ABA es un compuesto que existe naturalmente en las plantas. Es un sesquiterpenoide (15 carbonos) que es parcialmente producido a partir del ácido mevalónico en cloroplastos y otros plastos. Otros autores proponen una ruta biosintética a partir de la degradación de los carotenoides (40 carbonos) (**Figura 4.18**). El ácido abscísico (ABA) se obtiene principalmente de las bases ováricas de los frutos. El fruto del algodón (*Gossypium*) se caracteriza por proporcionarlo en gran cantidad. Las proporciones más elevadas de ABA se dan durante la época de la caída de los frutos.

Figura 4.18. *Rutas biosintéticas del ácido abscísico. Algunos autores proponen una vía directa a partir del ácido mevalónico. Otros proponen una vía indirecta a partir de la degradación de ciertos carotenoides. La violaxantina es el carotenoide de partida. Esta es isomerizada y escindida vía una reacción de isomerización seguida de una de oxidación. Se produce una molécula de xantoxina que es inestable y cambia espontáneamente a ABA aldehido. El ABA aldehido se oxida a ABA.*

4.4.1. EL ÁCIDO ABSCÍSICO Y LA INDUCCIÓN DE LATENCIA EN YEMAS Y SEMILLAS

En las especies leñosas, la latencia es una adaptación importante a los climas fríos. Cuando llega el invierno, estos árboles protegen sus meristemos con escamas y se paraliza temporalmente el crecimiento de estas yemas. Esta respuesta a las temperaturas frías necesita un mecanismo sensorial que detecte estos cambios ambientales y un sistema de control que traduzca esta señal y dispare el desarrollo de los procesos que conducen a la latencia de las yemas.

Inicialmente se sugirió que era el ABA el responsable de esta inducción. Sin embargo, posteriores análisis confirmaron que no siempre el contenido en ABA de las yemas se correlaciona con el grado de latencia. De todas formas, la aplicación de ABA a las yemas vegetativas las convierten en yemas hibernantes, al transformarse los primordios foliares en catáfilos. Los efectos inhibidores del ABA sobre las yemas pueden ser contrarrestados por la giberelina. El ABA parece que también actúa en la inducción de latencia en semillas. Las semillas secas latentes contienen usualmente grandes cantidades de ABA. La producción de α-amilasas, inducida por la giberelina en la semilla de cebada (*Hordeum vulgare*), es inhibida por el ABA, que parece inhibir la producción de proteínas en general.

4.4.2. EL ÁCIDO ABSCÍSICO Y LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE LOS TALLOS

El ABA apenas tiene efectos sobre las plantas enanas, pero reduce el crecimiento de las plantas normales. Esta inhibición del crecimiento puede ser contrarrestada por la giberelina. La auxina, por otro lado, parece actuar tanto interaccionando con la membrana plasmática como por la aceleración de proteínas específicas. Este crecimiento inducido por la auxina es inhibido por el ABA. El ABA bloquea la secreción de H^+ y evita la acidificación de la pared celular y la posterior elongación celular.

4.4.3. EL ÁCIDO ABSCÍSICO Y LA INDUCCIÓN DE LA SENESCENCIA

Si se deja caer una gota de ABA en una hoja, la zona mojada amarillea rápidamente, aunque el resto de la hoja siga verde. Este efecto es opuesto al producido por las citoquininas.

4.4.4. EL ÁCIDO ABSCÍSICO Y EL CONTROL DE LA APERTURA ESTOMÁTICA

Actualmente, no existen muchos usos prácticos para el ABA debido al escaso conocimiento de su fisiología y bioquímica. Sin embargo, el ABA puede tener una importancia enorme en el futuro de la agricultura, particularmente en zonas desérticas. Hay razones para creer que la tolerancia de algunas plantas a condiciones de estrés, tales como la sequía, está directamente relacionada con capacidad para producir ABA. Además, se sabe que el ABA puede causar el cierre de los estomas en algunas plantas, previniendo con ello la pérdida de agua por transpiración a través de las hojas y disminuyendo así los requerimientos hídricos de la planta. Bajo condiciones de sequedad, las concentraciones de ABA en las hojas pueden aumentar hasta 40 veces. El cierre de los estomas inducido por el ABA es una respuesta rápida y puede detectarse a los pocos minutos. Las células oclusivas parecen tener unos receptores específicos para el ABA sobre la superficie exterior de su membrana plasmática (**Figura 4.19**). La unión del ABA a los mismos regula la abertura de los canales iónicos membranales y la actividad

de las bombas de protones. El ABA parece también modificar las propiedades de la membrana en las células radicales lo que incrementa la entrada de agua e iones a las mismas. Si los genetistas vegetales son capaces de incorporar estas características inducidas por el ABA en un rango más amplio de plantas, podrá ser posible desarrollar nuevos cultivos que puedan crecer en zonas desérticas.

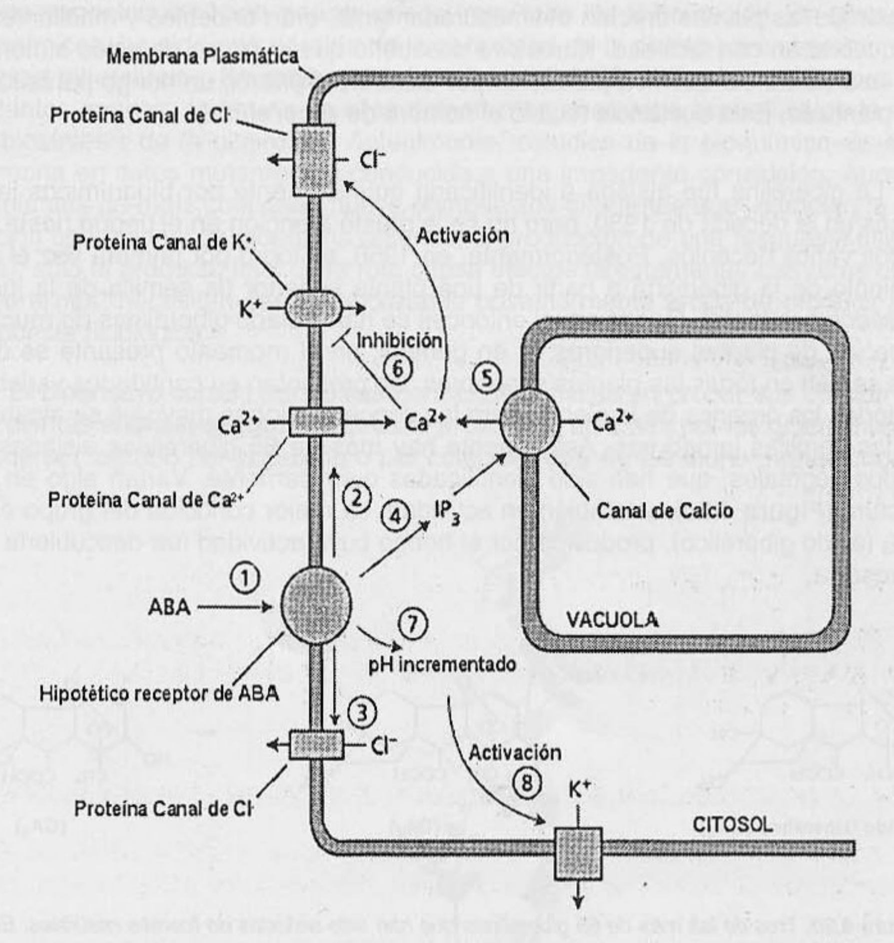


Figura 4.19. Modelo para la acción de ABA en las células oclusivas de los estomas. (1) El ABA se enlaza en un receptor, todavía sin caracterizar, situado en la membrana plasmática. La unión del ABA a este receptor dispara una cascada de señales. (2) El ABA produce la apertura de los canales de Ca^{2+}, y una despolarización temporal de la membrana. (3) Esta despolarización temporal promueve la apertura de los canales de Cl^-, que posteriormente despolarizan la membrana. (4) El ABA incrementa los niveles de IP_3. (5) El IP_3 abre los canales de Ca^{2+} dependientes de IP_3, produciendo una liberación de calcio desde la vacuola. (6) El incremento del calcio citosólico activa la apertura de los canales de Cl^- (de salida) e inhibe la de los canales de K^+ (de entrada). Este flujo neto de cargas negativas se traduce en una gran despolarización de la membrana. (7) El ABA causa un incremento en el pH citosólico. (8) Este incremento de pH produce la apertura de los canales de K^+ y la salida de K^+ al exterior. La turgencia de las células guarda disminuye por ello, y los estomas se cierran.

4.5. LAS GIBERELINAS

En el mismo año (1926) en que Went realizaba sus primeros experimentos con bloques de agar, E. Kurosawa, en el Japón, estudiaba una enfermedad del arroz (*Oriza sativa*) denominada "enfermedad loca de las plántulas", caracterizada porque las plantas crecían desmesuradamente, eran endebles y macilentas, y se quebraban con facilidad. Kurosawa descubrió que la causa de estos síntomas era una sustancia química producida por *Giberella fujikuroi*, un hongo parásito de las plántulas. Esta sustancia recibió el nombre de ***giberelina***.

La giberelina fue aislada e identificada químicamente por bioquímicos japoneses en la década de 1930, pero no se le prestó atención en el Japón hasta pasados varios decenios. Posteriormente, en 1956, se logró por primera vez el aislamiento de la giberelina a partir de una planta superior (la semilla de la judía, *Phaseolus vulgaris*). Desde aquel entonces se han aislado giberelinas de muchas especies de plantas superiores, y, en general, en el momento presente se cree que se den en todas las plantas superiores. Se presentan en cantidades variables en todos los órganos de la planta, pero las concentraciones mayores se alcanzan en las semillas inmaduras. Actualmente hay más de 65 giberelinas aisladas de tejidos vegetales, que han sido identificadas químicamente. Varían algo en estructura (**Figura 4.20**), y también en actividad. La mejor conocida del grupo es la AG_3 (ácido giberélico), producida por el hongo cuya actividad fue descubierta por Kurosawa.

Figura 4.20. Tres de las más de 65 giberelinas que han sido aisladas de fuentes naturales. El ácido giberélico (GA_3) es la más abundante en hongos y la biológicamente más activa en muchos test. Las flechas indican las diferencias estructurales menores que distinguen los otros dos ejemplos de giberelinas, la GA_7 y la GA_4. [Figura tomada de ***Raven, P.H. and Eichhorn, S.E.*** *(1992). Biología de las Plantas. Vol. II, Ed. Reverté, Barcelona].*

Las giberelinas provocan efectos sorprendentes en el alargamiento de plantas intactas. La respuesta más observada en las plantas superiores es un incremento notable en el crecimiento del vástago; a menudo los tallos se vuelven largos y delgados, con pocas ramas, y las hojas empalidecen. Las giberelinas estimulan a la vez la división celular y, afectan tanto a las hojas como a los tallos.

4.5.1. LAS GIBERELINAS Y LOS MUTANTES ENANOS

Los resultados más manifiestos se observan cuando se aplican giberelinas a algunas plantas con enanismo debido a un solo gen mutante (**Figura 4.21**). Tratadas con giberelina, tales plantas llegan a confundirse con las normales. Este efecto espectacular hace pensar que el resultado de la mutación, en términos bioquímicos, ha sido una pérdida de la capacidad de la planta para sintetizar sus propias giberelinas. En maíz, por ejemplo, se han identificado cuatro tipos de mutantes enanos, cada uno de ellos defectivo en una etapa específica de la ruta de biosíntesis de la giberelina. Actualmente, estudios de la bioquímica de esta hormona en estos mutantes ha conducido a una importante conclusión. Aunque las plantas de maíz contienen nueve compuestos diferentes que cumplen la definición operacional de giberelina (esto es, la producción de una respuesta fisiológica), sólo el producto final de la ruta causa efectos directamente. Las otras ocho "giberelinas" necesitan ser metabolizadas posteriormente antes de producir una respuesta fisiológica.

El bioensayo común para estas hormonas consiste en probar sus efectos sobre plantas enanas; el gran crecimiento provocado en éstas por las giberelinas no puede ser logrado por la auxina o por cualquier otra de las fitohormonas conocidas.



***Figura 4.21.** Aspecto de plantas de judía (Phaseolus vulgaris) mutantes y normales. **(A)** Mutante ultra-enano que no produce GAs. **(B)** Mutante enano que sólo produce GA_{20}. **(C)** Planta normal que produce GA_1. **(D)** Planta mutante enana a la que se añaden GAs exógenas.*

4.5.2. LAS GIBERELINAS Y INDUCCIÓN DE LA GERMINACIÓN EN LAS SEMILLAS

Las semillas de la mayoría de las plantas precisan un período de letargo antes de que puedan germinar. En determinadas plantas, normalmente el letargo sólo puede ser interrumpido por la acción del frío o de la luz. En muchas especies, entre las que cabe incluir la lechuga, el tabaco, y las avenas espontáneas, las giberelinas pueden sustituir el factor que interrumpe el letargo, promoviendo así el crecimiento del embrión y la salida de la plántula. Específicamente, las giberelinas aumentan la elongación celular, haciendo posible que las raíces puedan atravesar las cubiertas de las semilla. Este efecto de las giberelinas tiene, al menos, una aplicación práctica. El ácido giberélico acelera la germinación de las semillas y por ello asegura uniformidad en la producción de la malta de cebada usada en cervecería.

4.5.3. LAS GIBERELINAS Y LA MODIFICACIÓN DE LA JUVENILIDAD

Los estadios juveniles de algunas plantas son diferentes de sus estadios adultos. Entre las dicotiledóneas anuales, la judía (*Phaseolus*), cuyas hojas jóvenes son simples y las adultas compuestas (trifoliadas), suministra un buen ejemplo de tal heterofilia. Entre las perennes, muchas especies de *Eucalyptus* muestran sorprendentes diferencias entre sus hojas jóvenes y adultas.

La hiedra (*Hedera helix*) es otro buen ejemplo de ello. Si se tiene ocasión de observar una hiedra sobre una pared, compárense las ramas superiores, adultas, con las inferiores; la forma de la hoja es diferente. Las ramas jóvenes emiten raíces con facilidad, las maduras no. Las ramas adultas florecen, las jóvenes no (**Figura 4.22**). Si se coge una rama adulta y se la priva del meristemo apical, las yemas axilares se desarrollarán y formarán nuevas ramas adultas. Sin embargo, si se aplica giberelina a una yema de este tipo, se convertirá en una rama joven típica.

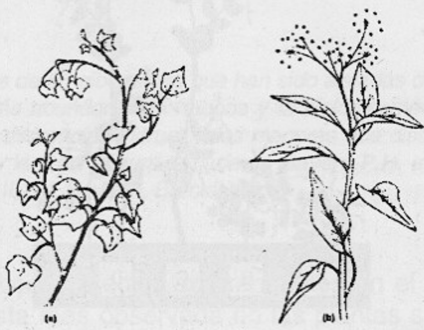


***Figura 4.22. Diferentes morfología foliar de la hiedra (Hedera helix).** (a) Forma juvenil. (b) Forma adulta. [Figura tomada de **Biology: Form and Function**. Plant Physiology. The Open University. Hodder & Stoughton].*

4.5.4. LAS GIBERELINAS Y LA FLORACIÓN DE PLANTAS DE DÍA LARGO

Algunas plantas, como las coles (*Brassica oleracea*, var. *capitata*), las zanahorias (*Daucus carota*), y la beleño (*Hyoscyamus niger*), de régimen bienal, forman rosetas antes de florecer. (En una roseta se desarrollan las hojas pero no los entrenudos). En estas plantas la floración puede ser inducida por la llegada de los días largos, por el frío (caso de las bienales), o por ambos. Bajo el estímulo apropiado, los tallos se alargan -o espigan- y la planta florece. La aplicación de giberelina a algunas de estas plantas de día largo permite que se espiguen y florezcan sin necesidad de frío o de días largos. La elongación producida se debe tanto al incremento en el número de divisiones celulares en ciertas localizaciones como a la elongación de las células resultantes de dichas divisiones. Es por ello que las giberelinas pueden ser utilizadas para producir semillas tempranas en flores bienales. Tratando coles con ácido giberélico pueden obtenerse semillas después de sólo una estación de crecimiento.

4.5.5. LAS GIBERELINAS Y EL DESARROLLO DEL FRUTO

En cierto número de géneros de plantas, entre los que figuran los lirios, las lobelias, las petunias, y los guisantes, se ha demostrado que las giberelinas estimulan la germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico. Al igual que la auxina, las giberelinas pueden ocasionar el desarrollo de frutos partenocárpicos, como por ejemplo, manzanas, grosellas, pepinos, y berenjenas. En algunos frutos, como la mandarina, la almendra y el melocotón, las giberelinas favorecen la partenocarpia, mientras que la auxina se muestra inefectiva. La principal aplicación de las giberelinas es, sin embargo, en la producción de uvas de mesa. En algunos países, se aplican anualmente grandes cantidades de ácido giberélico sobre ciertas variedades de uva (*Vitis vinifera*). Estos tratamientos producen racimos llenos de uvas de mayor tamaño (**Figura 4.23**).

4.5.6. ¿CÓMO ACTÚAN LAS GIBERELINAS?

Las giberelinas incrementan tanto la división como la elongación celular, debido a que tras la aplicación de giberelinas se incrementa el número de células y la longitud de las mismas. En el caso de las auxinas, el debilitamiento de la pared celular, necesario para el alargamiento celular, está mediado en parte por la acidificación de la misma. Sin embargo, éste no parece ser el mecanismo de acción de las giberelinas. Las giberelinas pueden inducir el crecimiento a través de una alteración de la distribución de calcio en los tejidos. Los iones calcio inhiben el crecimiento de los hipocótilos de lechuga, y esta inhibición puede ser revertida por la aplicación de giberelina (GA_3).

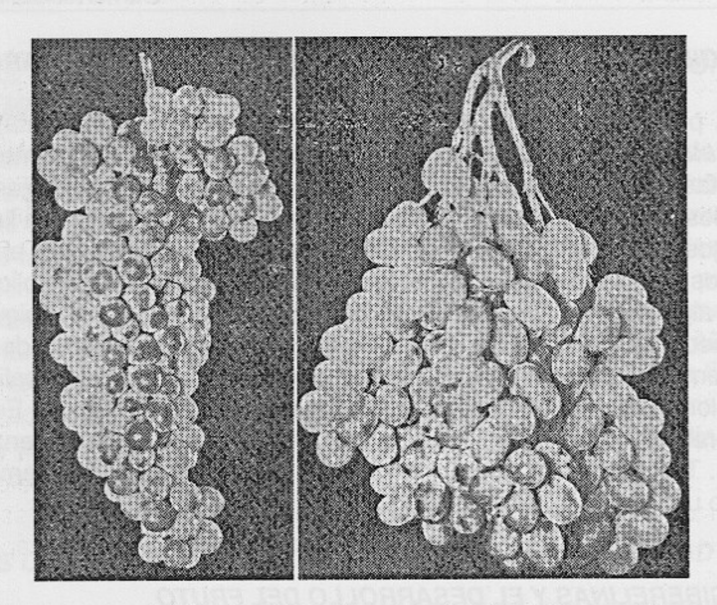


Figura 4.23. El efecto del ácido giberélico sobre el crecimiento de las uvas Thompson Seedles, un cultivar de Vitis vinifera. El racimo de la izquierda contiene uvas no tratadas, mientras que el de la derecha fue tratado con ácido giberélico. [Figura tomada de ***Raven, P.H. and Eichhorn, S.E.*** *(1992). Biología de las Plantas. Vol. II, Ed. Reverté, Barcelona].*

Los estudios más importantes sobre el mecanismo de acción de las giberelinas —y de las fitohormonas en general— han sido llevados a cabo simultáneamente por investigadores de Japón, Australia y Estados Unidos. Estos estudios, que fueron hechos sobre semillas de cebada, señalan la secuencia de cambios que ocurren en el embrión en vías de crecimiento y demuestran el papel principal desempeñado por la giberelina es esta secuencia. Además, suministran uno de los mejores ejemplos de como las hormonas integran la bioquímica y la fisiología de los diferentes tejidos de una planta.

En las semillas de cebada (*Hordeum vulgare*) y de otras gramíneas hay una capa de células especializadas, la capa de aleurona, que está inmediatamente por debajo del episperma. Estas células son ricas en proteína. Cuando las semillas empiezan a germinar —tras la imbibición de agua—, el embrión desprende giberelina, según han puesto de manifiesto estos estudios. Por efecto de la giberelina, las células de aleurona producen enzimas hidrolíticos, de las cuales la principal es la α-amilasa, que desdobla el almidón en azúcares (**Figura 4.24**). Las enzimas digieren las reservas nutritivas almacenadas en el endospermo amiláceo, que son entonces utilizables para el embrión, en forma de azúcares y aminoácidos, que son absorbidos por el escutelo y transportados a continuación hacia el embrión (**Figura 4.25**). De este modo, el embrión pide anticipadamente las sustancias necesarias para su propio crecimiento, las cuales estarán a su disposición en el momento que las necesite.

Los investigadores creen que la giberelina activa ciertos genes que sintetizan moléculas de ARNm, las cuales, a su vez, se encargan de la síntesis de las enzimas. No ha sido demostrado que la giberelina actúe directamente sobre el gen, aunque los investigadores han demostrado que tanto la síntesis de RNA como la de proteínas son necesarias para la aparición de las enzimas. Por otro lado, no se conoce cuál pueda ser la relación entre el modo de actuación de la giberelina en estas semillas y sus efectos en otros órganos de la planta.

4.5.7. APLICACIONES COMERCIALES DE LAS GIBERELINAS

El principal uso de las giberelinas es para incrementar el tamaño de los granos de uva sin semillas. También, la utilización de una mezcla de benciladenina (una citoquinina) y GA_{4+7} produce la elongación del fruto en las manzanas y se utiliza para modificar la forma de las manzanas tipo Delicius bajo determinadas circunstancias. En los cítricos, la aplicación de giberelinas retrasa la senecencia, por lo que los frutos pueden dejarse más tiempo en el árbol retrasando así su comercialización.

El incremento en la producción de enzimas hidrolíticos (**α-amilasa, fundamentalmente**) se emplea comercialmente para incrementar la producción de malta a partir de la cebada como paso previo a la fermentación.

El tratamiento con giberelinas puede incrementar la producción de caña de azúcar unas 20 ton por acre y la producción de azúcar en unas 2 ton por acre. Este incremento se debe a la elongación de los entrenudos durante el invierno.

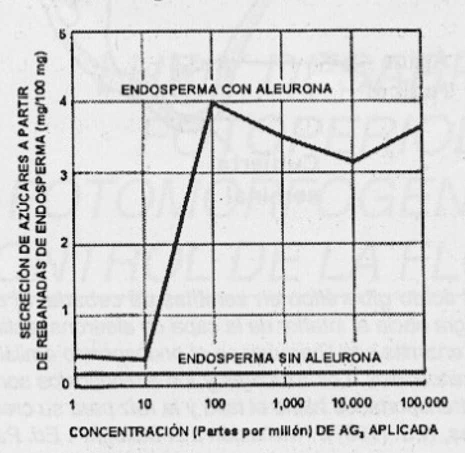


Figura 4.24. *La liberación de azúcar desde el endospermo puede ser inducida por el tratamiento con giberelinas (GA_3). Estos datos muestran que los azúcares sólo se producen cuando está presente la capa de aleurona. Esta es, de hecho, la fuente de la enzima **α-amilasa que digiere el almidón** almacenado en el endospermo. [Figura tomada de **Raven, P.H. and Eichhorn, S.E.** (1992). Biología de las Plantas.* Vol. II, Ed. Reverté, Barcelona].

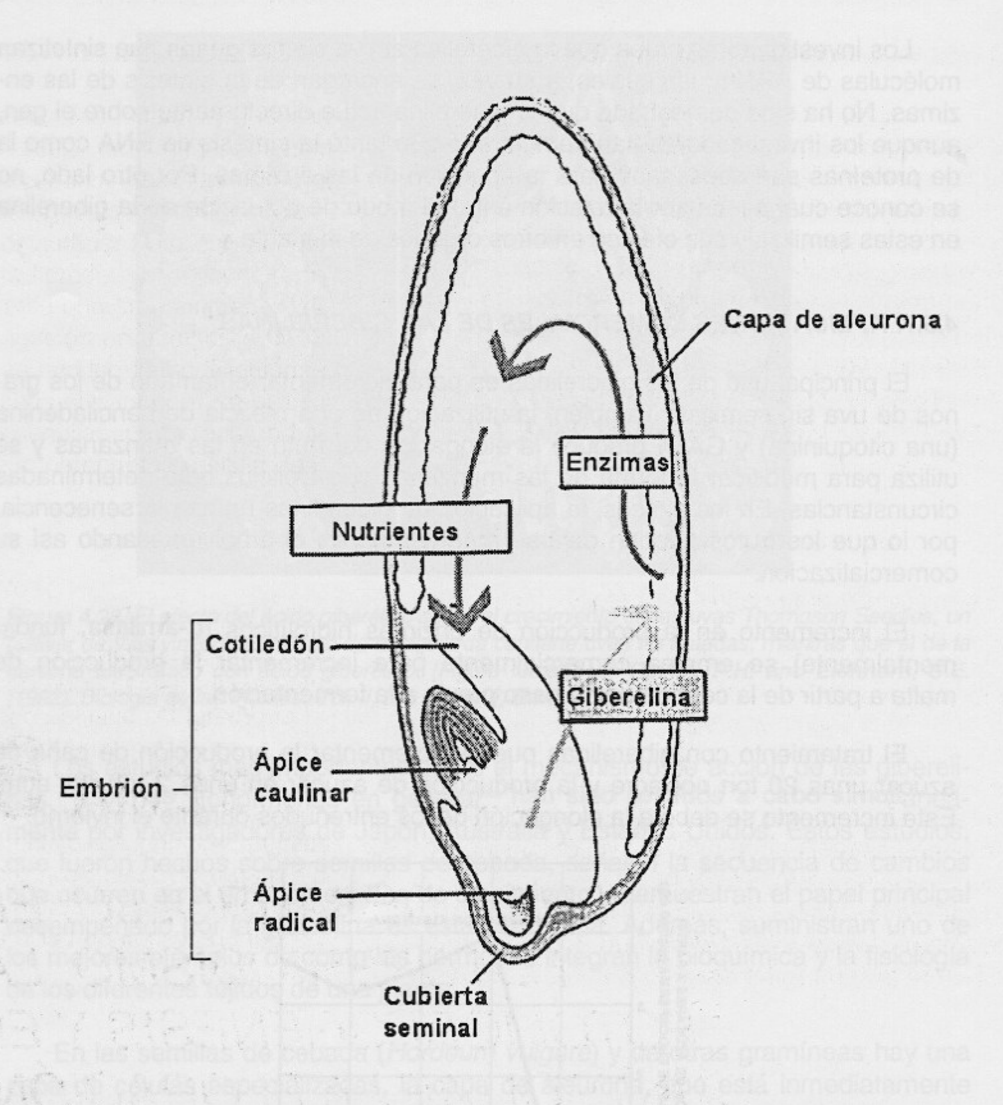


Figura 4.25. Acción del ácido giberélico en semillas de cebada. *El ácido giberélico (GA_3) producido por el embrión migra hacia el interior de la capa de aleurona, estimulando la síntesis de enzimas hidrolíticas. Estas enzimas son liberadas en el endospermo amiláceo donde rompen sus reservas en azúcares y aminoácidos. Los azúcares y los aminoácidos son entonces absorbidos por el escutelo (cotiledón) y transportados hacia el tallo y la raíz para su crecimiento. [Figura modificada de* ***Curtis, H. y Barnes, N.S.*** *(1997). "Invitación a la Biología". Ed. Panamericana].*

TEMA 5

LUZ Y DESARROLLO. EL FOTOPERIODISMO, LA FOTOMORFOGÉNESIS Y EL CONTROL DE LA FLORACIÓN.

La luz juega un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Además de la fotosíntesis, hay tres importantes procesos que afectan al crecimiento y desarrollo vegetal que dependen de la luz. Primero, los mecanismos de **fototropismo** y **movimientos násticos** que responden fundamentalmente a la luz azul. Segundo, el **fotoperiodismo**, es decir, la respuesta a las variaciones estacionales de la longitud del día. El fotoperiodismo es consecuencia de la absorción de luz por un pigmento ubicuo en las plantas, el fitocromo, que absorbe fundamentalmente luz roja y roja lejana. Finalmente, la **fotomorfogénesis**, es decir, el crecimiento y desarrollo de las plantas directamente controlado por la luz, que por un lado responde a la absorción de luz azul de alta intensidad y por otro también a la actividad del fitocromo. En este capítulo nos centraremos en el estudio del fotoperiodismo y la fotomorfogénesis.

5.1. FOTOPERIODISMO

El efecto de la duración de la longitud del día sobre la floración fue descubierto hace unos 70 años por dos investigadores del Departamento Norteamericano de Agricultura (U.S.D.A.), W. W. Garner y H.A. Allard. Encontraron que tanto la variedad de tabaco (*Nicotiana tabacum*) Maryland Mammoth como la variedad de soja (*Glycine max*) Biloxi no florecían a menos que la longitud del día fuera más corta que un valor crítico de horas de luz. Garner y Allard denominaron a este fenómeno **fotoperiodismo.** Las plantas que florecen solamente bajo ciertas condiciones de luminosidad dependientes de la longitud del día se denominan ***fotoperiódicas***. El fotoperiodismo es la respuesta biológica a un cambio en las proporciones de luz y oscuridad que tiene lugar en un ciclo diario de 24 horas (circadianos). Aunque el concepto de fotoperiodicidad surgió de estudios realizados en plantas, actualmente se ha demostrado en varios campos de la Biología.

5.1.1. LA LONGITUD DEL DÍA ES EL PRINCIPAL FACTOR DE CONTROL DE LA FLORACIÓN. PLANTAS DE DÍA CORTO (PDC) Y PLANTAS DE DÍA LARGO (PDL)

Garner y Allard consiguieron probar y confirmar su descubrimiento con otras muchas especies de plantas. Encontraron que las plantas son de tres tipos denominados **plantas de día corto (PDC), plantas de día largo (PDL)** y **plantas de día neutro** (PDN).

Las **PDC** florecen a principios de primavera o en otoño ya que deben tener un período de luz **inferior** a un cierto valor crítico. Por ejemplo, en el cadillo (*Xanthium strumarium*) la floración es inducida por 16 horas o menos de luz (**Figura 5.1**). Otros ejemplos de PDC son los crisantemos, las dalias, las poinsetias, algunas compuestas, las judías, las fresas y las primaveras.

Las **PDL**, que florecen principalmente en verano, sólo lo hacen si los períodos de iluminación son **mayores** que un valor crítico. La espinaca, algunas variedades de patata, algunas variedades de trigo, los gladiolos, los lirios, la lechuga y el beleño (*Hyoscyamus niger*) son ejemplos de PDL.

Las **PDN** florecen sea cual sea la longitud del día. Ejemplos de PDN son el pepino, el girasol, el tabaco, el arroz, el maíz y el guisante.

Hay que tener claro que las designaciones día corto y día largo son puramente fisiológicas. Una PDC es una planta que responde a una longitud del día menor que un valor crítico, mientras que una PDL es una planta que responde a una longitud del día superior a un valor crítico. El tiempo absoluto de iluminación no es lo importante. Por ejemplo, el cadillo (una PDC) y la espinaca (una PDL) florecerán si se exponen a 14 horas diarias de luz. La PDC florecerá puesto que el fotoperíodo es menor de 16 horas, su valor crítico, mientras que la PDL también lo hará puesto que el fotoperíodo, 14 horas, corresponde a su valor crítico.

Actualmente, algunos investigadores han propuesto un cuarto grupo de plantas, las **plantas de día intermedio (PDI)**. Estas plantas, como la caña de azúcar, sólo florecen si se exponen a períodos de luz de longitud intermedia. Si el período es mayor o menor que ese rango intermedio, la planta no florece.

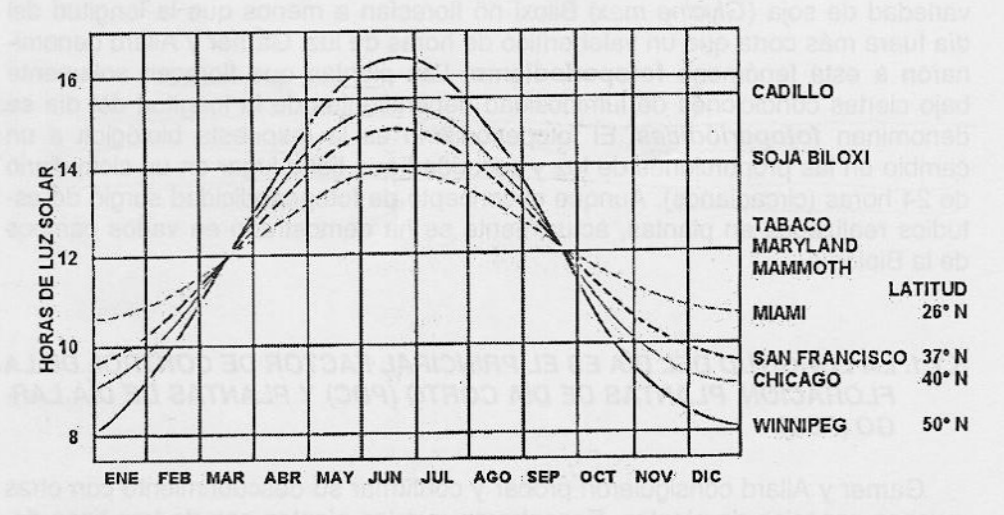


Figura 5.1. La longitud relativa del día y la noche determina el momento de floración de las plantas. Las cuatro curvas representan los cambios anuales en la longitud del día en ciudades de Norteamérica que están a diferentes latitudes (Miami, 26º N; San Francisco, 37º N; Chicago, 40º N; y Winnipeg, 50º N). Las líneas horizontales nos muestran el fotoperíodo efectivo de tres plantas de día corto diferentes (el cadillo, 16 horas; la soja "Biloxi", 14 horas; el tabaxo, "Maryland Mammoth", 12 horas). El cadillo, por ejemplo, necesita 16 horas o menos de luz. EN Miami puede florecer tan pronto como madura, pero en Winnipeg las yemas no aparecen hasta principios de agosto, tan tarde que, probablemente las heladas matan a la planta antes de que las semillas sean dispersadas. (Figura modificada de ***Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E.****, 1999. "Biology of Plants". 6th ed., W.H. Freeman and Company).*

La respuesta fotoperiódica puede ser extraordinariamente precisa. A 22.5 ºC, la PDL *Hyoscyamus niger* (beleño) florecerá cuando se exponga a fotoperíodos de 10 horas y 20 minutos (ver **Figura 5.2**). Sin embargo, a esta temperatura no florecerá si el fotoperíodo es de 10 horas. Las condiciones ambientales también afectan al comportamiento fotoperiódico. Por ejemplo, a 28.5 ºC el beleño requiere 11 horas y media de luz, mientras que a 15.5 ºC sólo requiere 8 horas y media.

La respuesta varía con las diferentes especies. Algunas plantas sólo requieren una única exposición al ciclo crítico luz-oscuridad, mientras que otras, como la espinaca, necesitan varias semanas de exposición. En muchas plantas existe una correlación entre el número de ciclos de inducción y la rapidez de la floración o el número de flores que se forman. Algunas plantas deben alcanzar un cierto grado de madurez antes de florecer, mientras que otras son capaces de responder al fotoperíodo adecuado cuando son plántulas. Algunas plantas, al envejecer, finalmente acabarán floreciendo aún cuando no estén expuestas al fotoperíodo adecuado. Sin embargo, florecerán mucho antes con la exposición adecuada.



Figura 5.2. Las plantas de día corto (PDC) florecen cuando el fotoperíodo está por debajo de un valor crítico. El cadillo (Xanthium strumarium) necesita 16 horas de luz para florecer. El beleño (Hyoscyamus níger) necesita unas 10 horas (según la temperatura) o más para florecer. Las barras de la parte superior indican la duración de los períodos de luz y de oscuridad en un día de 24 horas. (Modificada de ***Curtis, H., y Barnes, N.****, 1997. "Invitación a la Biología". 5ª ed. Ed. Panamericana.)*

5.1.2. *LAS PLANTAS CONTROLAN EL FOTOPERÍODO MIDIENDO LAS HORAS DE OSCURIDAD*

En 1938, otra pareja de investigadores, Karl C. Hammer y James Bonner, comenzaron un estudio sobre la fotoperiodicidad empleando el cadillo como sujeto de experimentación. Como ya hemos comentado antes, esta planta es de día corto y necesita 16 horas o menos de luz por cada ciclo de 24 horas para florecer. Es particularmente útil para la experimentación porque, en condiciones de laboratorio, una sola exposición a un ciclo de día corto induce la floración, que tendrá lugar 2 semanas más tarde, incluso si la planta vuelve seguidamente a condiciones de día largo. El cadillo puede soportar duros tratamientos, por ejemplo, puede sobrevivir incluso si se le quitan las hojas. Hammer y Bonner demostraron que la parte del cadillo que recibe el fotoperíodo es el limbo de la hoja. No se puede inducir la floración a una planta completamente desfoliada. Pero si se le deja tan solo una octava parte de una hoja extendida, una sola exposición a día corto induce la floración.

En el curso de estos estudios, en los cuales se ensayaron un gran número de condiciones experimentales, Hammer y Bonner hicieron un experimento crucial y totalmente inesperado. Si el período de oscuridad se interrumpía tan sólo un minuto con luz de una bombilla de 25 vatios, la floración no se producía. La interrupción del período de iluminación con oscuridad no tenía ningún efecto sobre la floración (**Figura 5.3**). Experimentos posteriores con otras plantas de día corto demostraron que estas también requerían período de oscuridad ininterrumpida más que de iluminación ininterrumpida.

La parte del período de oscuridad más sensible a la interrupción luminosa fue la central. Si una PDC como el cadillo, se expone a un período de luz de 8 horas y luego a un amplio período de oscuridad, puede demostrarse que la planta pasa a un estado de creciente sensibilidad a las interrupciones de luz que dura aproximadamente 8 horas, seguido por un período en el que las interrupciones de luz van disminuyendo su efecto. De hecho, un minuto de luz después de 16 horas de oscuridad estimula la floración.

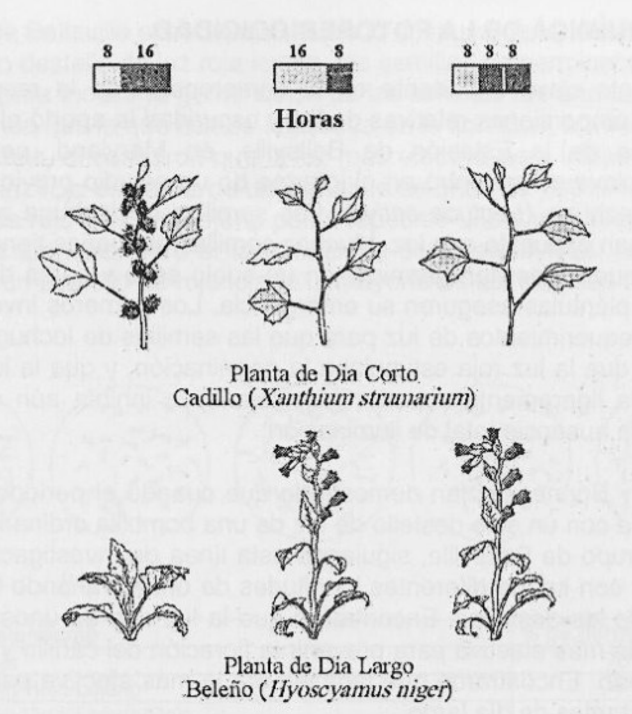


Figura 5.3.*.** *Como vimos en la figura 5.2, las plantas de día corto (PDC) florecen cuando el fotoperíodo está por debajo de un valor crítico mientras que las de día largo (PDL) lo hacen cuando el fotoperíodo es superior a un valor crítico. En esta figura vemos como el cadillo (Xanthium strumarium) necesita 16 horas de luz para florecer mientras que el beleño (Hyoscyamus níger) necesita unas 10 horas (según la temperatura) o más para florecer. Sin embargo, si el período oscuro se interrumpe con un solo destello de luz, el beleño también florecerá en un período de día corto. Un "pulso" de luz durante el período de oscuridad tiene un efecto opuesto en las plantas de día corto: evita la floración. Las barras de la parte superior indican la duración de los períodos de luz y de oscuridad en un día de 24 horas. (Tomada de* ***Curtis, H., y Barnes, N.*, 1997. "Invitación a la Biología". 5ª ed. Ed. Panamericana.)*

Basándose en los hallazgos de Garner y Allard, los cultivadores de crisantemos habían encontrado que podían retrasar la floración de las plantas de día corto alargando la duración del día con luz artificial. Fundamentándose en los nuevos experimentos de Hammer y Bonner, fueron capaces de retrasar la floración simplemente encendiendo la luz durante un corto período en medio de la noche.

¿Qué pasa con las PDL? También ellas miden la oscuridad. Una PDL que florece si se mantiene en un laboratorio durante 16 horas de luz y 8 de oscuridad también florecerá con 8 horas de luz y 16 de oscuridad si se interrumpe la oscuridad aunque sea con una breve exposición de luz (**Figura 5.4**).

5.2. BASE QUÍMICA DE LA FOTOPERIODICIDAD

La siguiente clave importante en la comprensión de la respuesta de las plantas a las proporciones relativas de luz y oscuridad la aportó el trabajo de los investigadores de la Estación de Beltsville, en Maryland, perteneciente al U.S.D.A. La clave se encontró en el informe de un estudio previo realizado con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*). Las semillas de lechuga germinan solamente si se han expuesto a la luz. Muchas semillas pequeñas tienen este requerimiento, ya que necesitan germinar en un suelo seco y cerca de la superficie para que las plántulas aseguren su emergencia. Los primeros investigadores, al estudiar los requerimientos de luz para que las semillas de lechuga germinaran, demostraron que la luz roja estimulaba la germinación, y que la luz de una longitud de onda ligeramente superior (rojo lejano) la inhibía aún de forma más efectiva que la ausencia total de iluminación.

Hammer y Bonner habían demostrado que cuando el período de oscuridad se interrumpía con un solo destello de luz de una bombilla ordinaria, el cadillo no florecía. El grupo de Beltsville, siguiendo esta línea de investigación, empezó a experimentar con luz de diferentes longitudes de onda, variando la intensidad y la duración de los destellos. Encontraron que la luz roja de unos 660 nm (rojo-naranja) era la más efectiva para prevenir la floración del cadillo y de otras plantas de día corto. Encontraron que también era la más efectiva para promover la floración en plantas de día largo.

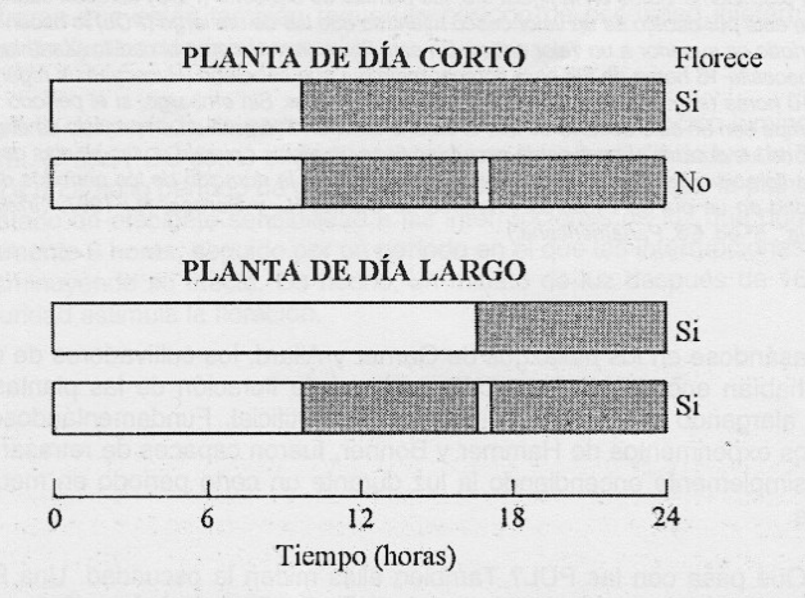
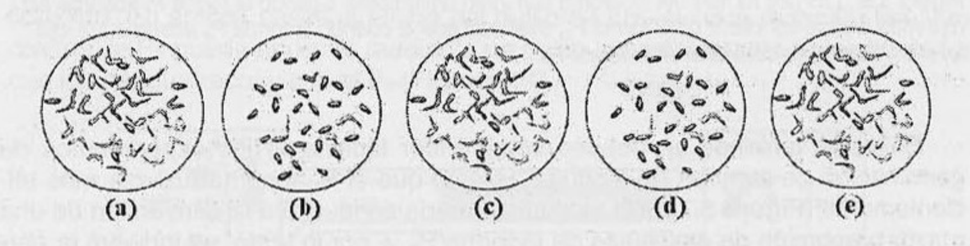


Figura 5.4. *Diagrama que ilustra como la interrupción luminosa durante el período de oscuridad (fotoperíodos cortos) previene la floración en una planta de día corto y la promueve en una de día largo. (Modificado de* ***Ting, I.P.****, 1982, "Plant Phisiology". Addison-Wesley Publishing Company).*

El grupo de Beltsville observó que, cuando después de un destello de luz roja se aplicaba un destello de luz roja lejana, las semillas no germinaban. La luz roja más efectiva para inducir la germinación de las semillas fue una luz de la misma longitud de onda que la que estaba implicada en la floración, aproximadamente a 660 nm. Además, encontraron que la luz más efectiva para inhibir el efecto producido por la luz roja era la luz de una longitud de onda de 730 nm. La secuencia de destellos de rojo y de rojo lejano podía repetirse una y otra vez; el número de destellos no importaba, pero sí la naturaleza del destello final. Si la secuencia acababa con un destello de rojo lejano la mayoría de las semillas no germinaban (**Figura 5.5**).



	Tratamiento	% de germinación
(a)	Rojo	70
(b)	Rojo/Rojo Lejano	4
(c)	Rojo/Rojo Lejano/Rojo	74
(d)	Rojo/Rojo Lejano/Rojo/Rojo Lejano	4
(e)	Rojo/Rojo Lejano/Rojo/Rojo Lejano/Rojo	76

Figura 5.5. *La luz y la germinación de las semillas de lechuga. Figuras superiores: (a) Semillas expuestas brevemente a luz roja; (b) semillas expuestas a luz roja, seguida de luz roja lejana; (c) semillas expuestas a una secuencia de luz roja, roja lejana, roja; (d) semillas expuestas a una secuencia de luz roja, roja lejana, roja, roja lejana; (e) semillas expuestas a una secuencia de luz roja, roja lejana, roja, roja lejana, roja. En la tabla inferior se indican, en forma de porcentaje, el número de semillas germinadas en base a la secuencia de iluminación recibida. Las germinación de las semillas depende de la longitud de onda final de la serie de exposiciones –la luz roja promueve la germinación, y la luz roja lejana la inhibe). (Figura modificada de* ***Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E.****, 1999. "Biology of Plants". 6th ed., W.H. Freeman and Company).*

5.2.1. EL DESCUBRIMIENTO DEL FITOCROMO

Las plantas contienen un pigmento que se encuentra en dos formas diferentes e interconvertibles; P_r (la forma que absorbe luz roja, "red") y P_{fr} (la forma que absorbe luz roja lejana, "far red"). Cuando una molécula de P_r absorbe un fotón de luz de una longitud de onda de 660 nm se convierte en P_{fr} en cuestión de segundos; cuando una molécula de P_{fr} absorbe un fotón de luz roja lejana de una longitud de onda de 730 nm se convierte rápidamente en la forma P_r en unos 20 a 30 milisegundos . Estas reacciones reciben el nombre de **reacciones de fotoconversión**. La forma P_{fr} es biológicamente activa (esto es, desencadenará una respuesta, por ejemplo de germinación), mientras que la forma P_r es inactiva

(**Figura 5.6**). De esta forma, la molécula de pigmento puede actuar como un interruptor biológico, conectando o desconectando las respuestas según la forma en que se encuentre.

660 nm (luz roja)

$$P_r \rightleftarrows P_{fr}$$

730 nm (luz roja lejana)

Figura 5.6.. Las dos formas del fitocromo son interconvertibles. Cuando la forma P_r absorbe luz roja (660 nm) se convierte en la forma P_{fr}, mientras que la cuando la forma P_{fr} absorbe luz roja lejana (730 nm) se convierte en la forma P_r.

En estos términos se pueden comprender fácilmente los experimentos de germinación de semillas de lechuga. Puesto que el P_r absorbe luz roja más eficientemente (**Figura 5.7**) esta longitud de onda conducirá a la conversión de una mayor proporción de moléculas de la forma P_{fr} y, por lo tanto, se inducirá la germinación. Cuando la forma P_{fr} absorba luz roja lejana prácticamente todas las moléculas volverán a la forma P_r, anulando así el efecto de la primero emisión de luz roja.

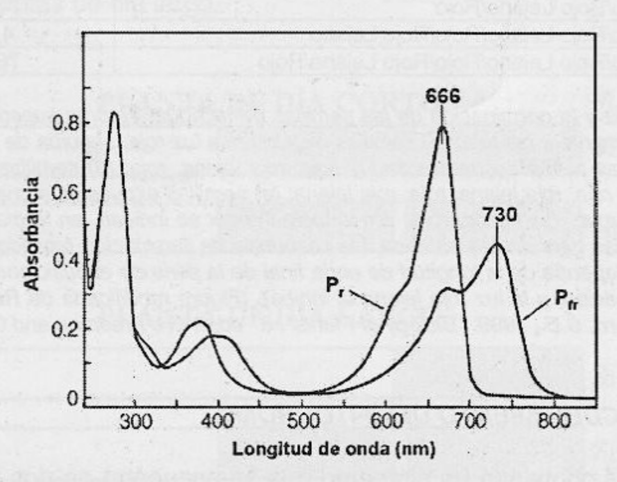


Figura 5.7. Espectro de absorción de las dos formas del fitocromo, P_r y P_{fr}. Estas diferencias en la absorción hicieron posible el aislamiento del pigmento. (Figura modificada de ***Salisbury, F.B. and Ross, C.W.****, 1991. "Plant Physiology", 2nd ed., Wadsworth Publishing Company).*

¿A qué se debe que las plantas florezcan conforme a los ciclos naturales de día y noche? Puesto que la luz blanca contiene tanto longitudes de onda de rojo como de rojo lejano, las dos formas de pigmento están expuestas simultáneamente a los fotones que conducen a la fotoconversión a la forma opuesta. Por lo tanto, después de recibir unos pocos minutos de luz se establece un

fotoequilibrio en el que la reacción directa ($P_r \rightarrow P_{fr}$) y la reacción inversa ($P_{fr} \rightarrow P_r$) se equilibran. En estas condiciones siempre hay una proporción constante de cada forma en la población de fitocromo (aproximadamente un 60 % de P_{fr} al mediodía), y esta proporción se mantiene mientras haya luz.

Cuando al final del período luminoso las plantas se encuentran en la oscuridad, el nivel de P_{fr} declina regularmente durante un período de algunas horas. Si se regenera el nivel de P_{fr} mediante un pulso de irradiación con luz roja a mitad del período oscuro se inhibirá la floración en las PDC (esto es, de "noche larga") que sin esta interrupción habrían florecido; y, de la misma forma, se estimulará la floración de las PDL (esto es, de "noche corta") que sin la interrupción no habrían florecido. En ambos casos el efecto del pulso de luz rojo que regenera los altos niveles de P_{fr} puede anularse mediante un pulso inmediatamente posterior de luz roja lejana, que reconvierte el P_{fr} (**Figura 5.8**),.

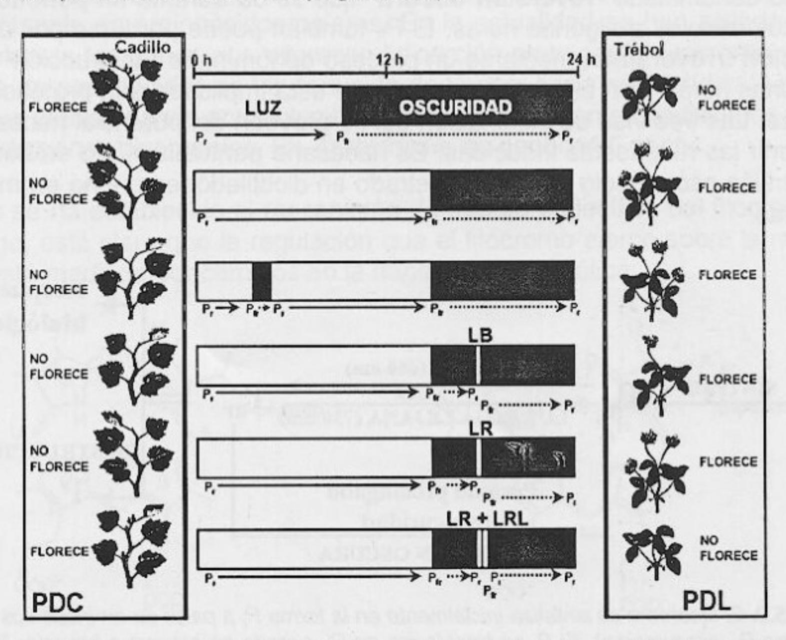


***Figura 5.8.** Esta figura nos muestra el efecto que tiene la interrupción del período de oscuridad en plantas de día corto (cadillo) y de día largo (trébol). Como se ve en la primera barra, en condiciones de día corto (10 horas de luz y 14 de oscuridad) florece la PDC y no lo hace la PDL. En condiciones de día largo (14 de luz y 10 de oscuridad), segunda barra, florece la PDL pero no la PDC. En la tercera barra vemos como la interrupción del período luminoso con un corto período de oscuridad, en condiciones totales de día largo, no afectan para nada a la floración de las PDC (siguen sin florecer) y de las PDL (siguen floreciendo). En la cuarta barra observamos como una breve interrupción con luz blanca del período de oscuridad, cuando las condiciones son de día largo, tampoco influye en los resultados, y éstos son los esperados. En la quinta barra la interrupción del período de oscuridad con un pulso de luz roja, sigue sin alterar los resultados esperados. Sin embargo, en la barra sexta, vemos como la interrupción del período de oscuridad con pulsos alternos de luz roja y roja lejana, si afecta a la floración siempre y cuando el último pulso sea de luz roja lejana, ya que esta convierte toda la forma P_{fr} que aún permanece en la forma P_r con lo que se impide la floración en la PDL.*

En 1959, Harry A. Borthwick y sus colaboradores de Beltsville llamaron a este pigmento fitocromo y demostraron su experiencia con evidencias irrefutables. El fitocromo está ampliamente distribuido en el reino vegetal, encontrándose virtualmente en todas las algas y plantas superiores. En plántulas ahiladas parece concentrarse en los meristemos, tanto apical como cambial. En general las concentraciones con demasiado bajas como para ser detectada por métodos espectrofotométricos en hojas intactas, pero ha podido identificarse en extractos de hojas verdes. En la **Figura 5.9** se resumen esquemáticamente las características principales de este pigmento, tal como se conoce actualmente. La molécula se sintetiza de forma continua y se acumula en la forma P_r en las plantas que están creciendo en la oscuridad. La luz provoca la fotoconversión del P_r a P_{fr}, el cual induce una respuesta biológica. El P_{fr} puede convertirse a P_r por **fotoconversión** con luz roja lejana o por reversión a P_r en la oscuridad, mediante un proceso denominado "**reversión oscura**" que se da durante un período que va de pocos minutos a algunas horas. El P_{fr} también puede perderse por **desnaturalización irreversible**, mediante un proceso denominado "destrucción" que dura algunas horas y en el que probablemente está implicada una proteasa que lo hidroliza. Las tres vías de eliminación del P_{fr} proveen del potencial necesario para revertir las respuestas inducidas. Es necesario puntualizar, sin embargo, que la reversión oscura sólo se ha demostrado en dicotiledóneas, y no en monocotiledóneas.

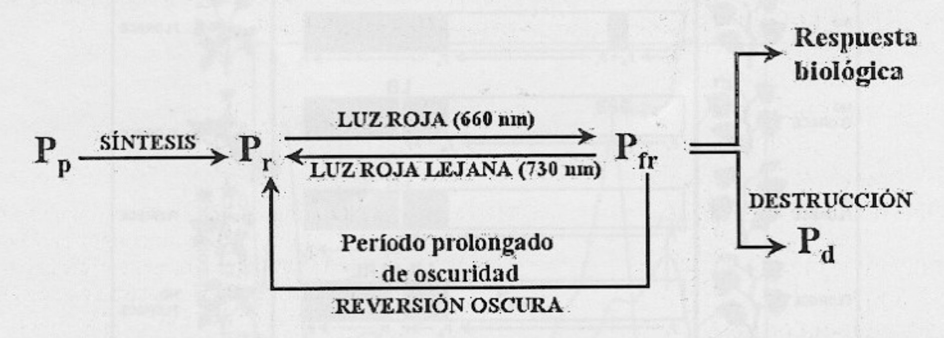


*Figura 5.9. El fitocromo se sintetiza inicialmente en la forma P_r a partir de aminoácidos (designados como P_p, precursores). El P_r se transforma en P_{fr} cuando se expone a luz roja. El P_{fr} es la forma activa que induce la respuesta biológica. El P_{fr} se reconvierte a P_r cuando se expone a luz roja lejana. En la oscuridad, el P_{fr} revierte a P_r (reversión oscura) o se destruye por una proteasa (P_d, designa el producto de la destrucción). (Figura modificada de **Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E.,** 1999. "Biology of Plants". 6th ed., W.H. Freeman and Company).*

5.2.1.1. El aislamiento del fitocromo

En los vegetales el fitocromo se encuentra en cantidades relativamente pequeñas comparadas con las de los pigmentos como la clorofila. Para detectarlo se necesita un espectrofotómetro sensible a cambios extremadamente pequeños en la absorbancia de luz. Este tipo de espectrofotómetro no se introdujo hasta

unos siete años después de que se propusiera la existencia del fitocromo y, de hecho, el primer uso del nuevo instrumento fue la detección y el aislamiento de este pigmento.

Se comprobó que el fitocromo era de color azul y que este color cambiaba ligeramente en respuesta al rojo y al rojo lejano, lo que demostraba su interconversión. La **Figura 5.7** muestra los espectros de absorción de las dos formas en que puede encontrarse este pigmento. Este espectro de absorción es comparable al espectro de acción de la luz roja/roja lejana sobre la floración y sobre la germinación. Se descubrió que la molécula de fitocromo estaba compuesta de dos partes diferenciadas: una porción que absorbe la luz (el cromóforo) y una gran porción proteica (**Figura 5.10**). El cromóforo es muy similar a las ficobilinas que actúan como pigmentos accesorios en las cianobacterias y en las algas rojas. El fitocromo tiene un PM de 120,000 daltons, es soluble en agua y posee un alto contenido en aminoácidos polares. En la actualidad se han aislado en distintas plantas los genes que expresan la porción proteica del fitocromo, y la secuencia de aminoácidos se ha deducido de la secuencia nucleotídica. La mayoría de las plantas tienen probablemente diferentes fitocromos codificados por una familia de genes divergentes. En *Arabidopsis*, se conocen 5 genes.

Aún no se ha establecido el mecanismo de trabajo específico del fitocromo. Sin embargo, está claro que la regulación que el fitocromo ejerce sobre la morfogénesis está mediada por cambios en la transcripción genética.

Figura 5.10. *Estructura química de las 2 formas del cromóforo del fitocromo. A la izquierda la forma P_r y a la derecha la forma P_{fr}. (Figura modificada de* ***Salisbury, F.B. and Ross, C.W.****, 1991. "Plant Physiology", 2nd ed., Wadsworth Publishing Company).*

5.2.1.2. Fenómenos de inducción-reversión

En la **Figura 5.11** se muestran la algunos de los procesos de inducción-reversión mediados por el fitocromo. Algunos de los más notables son la promoción de la floración en PDC, la inhibición de la floración en PDL, la promoción de la germinación en ciertas semillas, y la promoción de la expansión foliar. En PDC, P_{fr} inhibe la floración mientras que en PDL la promueve.

Hay dos principales hipótesis sobre como el fitocromo regula tales procesos fisiológicos. Una hipótesis es que el fitocromo funciona alterando las propiedades de permeabilidad de las membranas celulares. La segunda hipótesis es la de que el fitocromo opera sobre el genoma de la planta. La mayoría de las respuestas del fitocromo ocurren con poco retraso tras el fenómeno inductivo, lo que sugiere fenómenos de membrana. Las interacciones fitocromo-membrana resultarían en alteraciones de los flujos transmembranales, cambios en la compartimentalización de metabolitos, y diferencias en la distribución de las enzimas. Otras de las respuestas mediadas por el fitocromo son más lentas. La inducción de la fenil-alanina amonio liasa (PAL) se produce unos 60 min después de la estimulación en *Brassica*. Otros fenómenos más complejos tales como la floración ocurren siempre con algunos días de retraso, lo que estaría de acuerdo con la segunda hipótesis.

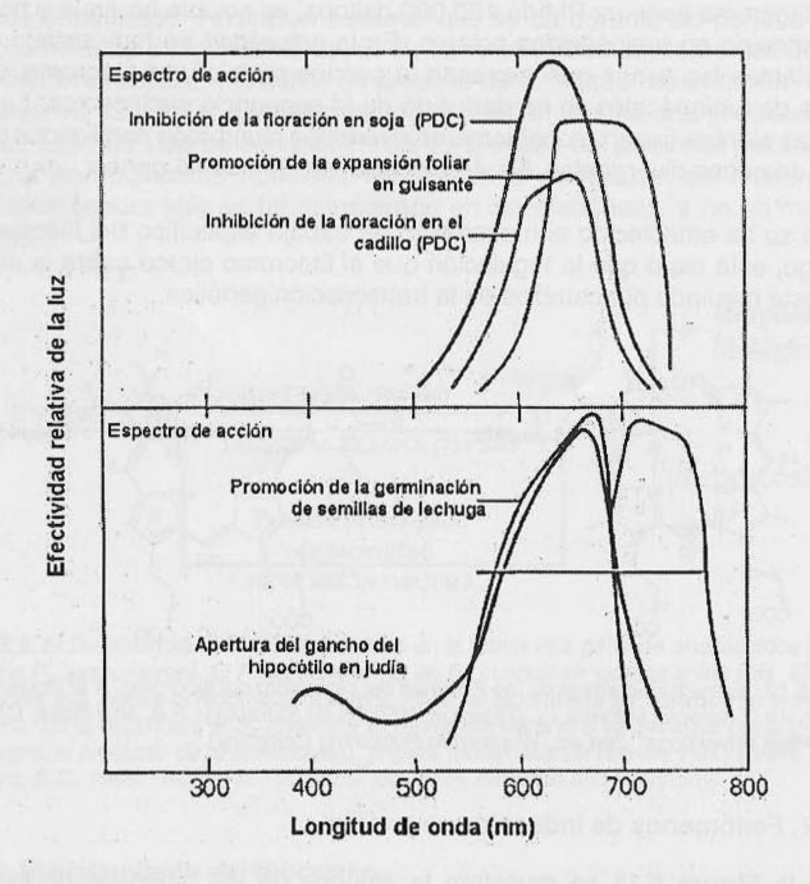


Figura 5.11. Espectros de acción de algunos procesos fisiológicos que están mediados por el fitocromo. Puede verse como los máximos de acción de estos procesos coinciden con los picos máximos de absorción de las dos formas del fitocromo (ver figura 5.7). (Figura modificada de ***Salisbury, F.B. and Ross, C.W.****, 1991. "Plant Physiology", 2nd ed., Wadsworth Publishing Company).*

Algunos estudios parecen indicar que el fitocromo se encuentra localizado entre el citoplasma y la pared celular, como un componente de la membrana plasmática. Se ha sugerido que durante la fototransformación de P_r a P_{fr} el P_{fr} cambia su orientación dentro de la membrana, lo que apoyaría la hipótesis de que el fitocromo actúa alterando la permeabilidad de la membrana celular.

5.2.1.3. El fitocromo está implicado en una amplia variedad de respuestas de las plantas

Actualmente se sabe que el fitocromo está relacionado con otras respuestas vegetales. La germinación de muchas semillas, por ejemplo, se da en la oscuridad. En las plántulas, el tallo se alarga rápidamente y empuja al brote (o, en la mayoría de las monocotiledóneas, al cotiledón) a través del suelo oscuro. Durante esta fase del crecimiento no hay, esencialmente, agrandamiento de las hojas; este agrandamiento interferiría en el paso del brote a través del suelo. Cualquier plántula que crezca en la oscuridad será alargada y fusiforme, y tendrá hojas pequeñas. Será también casi incolora, pues los plastos no se vuelven verdes hasta que están expuestos a la luz. Cuando estas plántulas tienen esta forma se dice que están **ahiladas** (o **etioladas**).

Cuando el ápice de la plántula sale a la luz, se pasa del crecimiento ahilado al crecimiento vegetal normal. En las dicotiledóneas, la plántula curvada (o gancho) se endereza, la velocidad de crecimiento del tallo aminora ligeramente y empieza el crecimiento foliar. En las gramíneas cesa el crecimiento del mesocótilo (la parte axial del embrión está entre el escutelo y el coleoptilo), el tallo se alarga y las hojas se abren. Tales respuestas inducidas por la luz se denominan **respuestas fotomorfogenéticas.**

Una plántula de judía que ha crecido en la oscuridad y que reciba, por ejemplo, cinco minutos de luz roja al día, mostrará estos efectos de la luz a partir del cuarto día. Si la exposición a la luz roja va seguida de una exposición de cinco minutos a la luz roja lejana, no aparecerá ninguno de los cambios causados habitualmente por la luz roja. Del mismo modo, en las plántulas de los cereales, el fin del crecimiento del mesocótilo está determinado por la exposición a la luz roja, y el efecto de la luz roja se anula con la luz roja lejana.

Un estudio realizado en Inglaterra recientemente sugiere que en las plantas silvestres el fitocromo ejerce una función importante al detectar la sombra de otras plantas. La vegetación absorbe o refleja casi completamente la radiación que está por debajo de los 700 nm mientras que la radiación que está entre los 700 y los 800 nm (que comprende el rojo lejano) se transmite mayoritariamente. En las plantas sombreadas esto provoca un claro cambio al elevar la proporción de P_r respecto a P_{fr} (esto es hay más P_{fr} que se convierte en P_r) y como consecuencia provoca un rápido incremento de la tasa de elongación internodal.

Las reacciones reversibles de rojo/rojo lejano también están relacionadas con la formación de antocianos en manzanas, nabos y coles; con la germinación de semillas; con los cambios en los cloroplastos y en otros plastos; y con una gran variedad de otras respuestas vegetales durante todas las etapas del ciclo vital de las plantas.

5.2.1.4. Fitocromo y fotoperiodicidad

Cuando se demostró por primera vez la existencia del fitocromo, sus descubridores formularon la hipótesis de que el comportamiento del fitocromo podría explicar la fotoperiodicidad, esto es, que la conversión rojo/rojo lejano podría estar implicada en el mecanismo que mide el tiempo, el reloj biológico. Según esta hipótesis el P_{fr} inhibe la floración en PDC, pero la estimula en PDL. En las PDC, el P_{fr} podría acumularse en la luz y eliminarse en el subsiguiente período oscuro mediante la destrucción o la reversión oscura. Cuando las noches fueran lo suficientemente largas, se eliminaría todo el P_{fr} (o una cantidad crítica), y, por lo tanto, no se inhibiría por más tiempo la floración. Por otra parte, las PDL requerirían noches cortas, durante las cuales el P_{fr} no sería completamente destruido; si la noche fuera suficientemente corta quedaría la cantidad de P_{fr} necesaria para inducir la floración.

Sin embargo, los experimentos han demostrado que en la mayoría de las plantas el P_{fr} desaparece durante las primeras tres o cuatro horas de oscuridad. A causa de estos experimentos y otras observaciones, actualmente se acepta que el fenómeno de medición del tiempo o fotoperiodicidad no está solamente controlado por la interconversión P_{fr}/P_r. Deberá buscarse una explicación más compleja.

5.3. CONTROL HORMONAL DE LA FLORACIÓN

Hammer y Bonner, en sus primeros experimentos con el cadillo, demostraron que la hoja "percibía" la luz, lo cual provocaba el desarrollo de la yema floral. Aparentemente, de la hoja a la yema se transmite alguna sustancia que tiene profundos efectos sobre el crecimiento y desarrollo. Esta sustancia hipotética ha recibido el nombre de **hormona de la floración** o **estímulo floral.**

5.3.1. LA HIPOTÉTICA HORMONA DE LA FLORACIÓN PERMANECE SIN IDENTIFICARSE

En la década de los años 30 algunos laboratorios empezaron a realizar, de forma independiente, los primeros experimentos sobre el estímulo floral. El fisiólogo vegetal M. Kh. Chailakhyan llevó a cabo algunos experimentos justamente unos pocos años antes de que se efectuaran los primeros estudios sobre el cadillo. Utilizando una planta de día corto, *Chrysanthemum indicum*, Chailakhyan demostró que si se deshojaba la parte superior de la planta y las hojas de la parte inferior se exponían a un período de inducción de día corto, la planta

florecía. En cambio, si la parte superior deshojada se mantenía en condiciones de día corto y la parte inferior con hojas se mantenía en condiciones de día largo, la floración no ocurría (**Figura 5.12**). Él interpretó estos resultados como indicadores de que las hojas producían una hormona que se dirigía al ápice e iniciaba la floración. Chailakhyan denominó a esta hormona hipotética ***florígeno***, "el hacedor de flores".

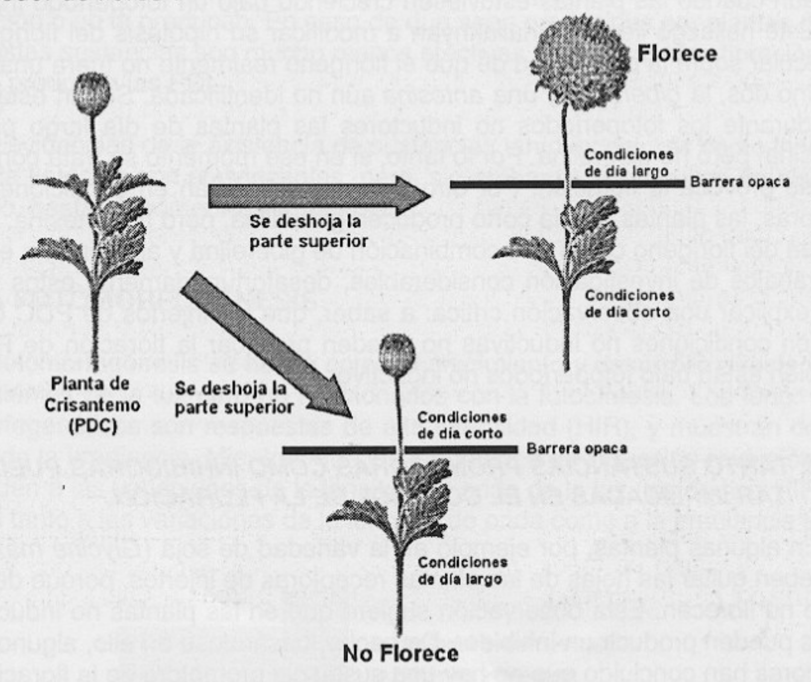


Figura 5.12. *Experimentos de Chailakhyan con especies de crisantemo (Chrysanthemum sp.), una PDC. La floración ocurría cuando las hojas estaban sometidas a fotoperíodos de día corto aunque las yemas florales estuviesen en condiciones de día largo. Sin embargo, cuando las hojas estaban en condiciones de día largo, la floración no se producía aunque las yemas estuviesen en fotoperíodos de día corto. (Figura modificada de* ***Moore, R., Clark, W.D., and Vodopich, D.S.,*** *1998, "Botany"; 2nd ed., WCB McGraw-Hill).*

Experimentos posteriores demostraron que la respuesta floral no tiene lugar si inmediatamente después de la fotoinducción se quitan las hojas. Pero si se dejan las hojas en la planta durante unas pocas horas después de completarse el ciclo de inducción, pueden quitarse sin que la floración se vea afectada. La hormona de la floración puede pasar, por injerto, de una planta fotoinducida a una planta no fotoinducida. Sin embargo, a diferencia de la auxina, que puede pasar a través del agar o de tejidos muertos, el florígeno sólo puede ir de un tejido vegetal a otro si entre ambos hay conexiones anatómicas de tejido vivo. Si se descorteza una rama, esto es, si se le quita una tira circular de corteza, el movimiento del florígeno cesa. En base a estos datos se concluyó que el florígeno se mueve a través del sistema floemático, vía por la que se transportan la mayoría de las sustancias orgánicas.

5.3.2. LAS GIBERELINAS PUEDEN INDUCIR LA FLORACIÓN EN ALGUNAS PLANTAS

Posteriormente Antón Lang, entonces en el California Institute of Technology, demostró que en algunas plantas bienales y algunas plantas de día largo, como el apio y la col, se podía inducir la floración mediante un tratamiento con giberelina, aún cuando las plantas estuviesen creciendo bajo un fotoperíodo inadecuado. Este hallazgo llevó a Chailakhyan a modificar su hipótesis del florígeno y a especular sobre la posibilidad de que el florígeno realmente no fuera una hormona sino dos, la *giberelina* y una *antesina* aún no identificada. Según esta hipótesis, durante los fotoperíodos no inductores las plantas de día largo producen antesina, pero no giberelina. Por lo tanto, si en ese momento se trata con giberelina se provoca la floración. Por otro lado, cuando están en condiciones no inductoras, las plantas de día corto producen giberelina, pero no antesina. Aunque la idea del florígeno como una combinación de giberelina y antesina ha estimulado trabajos de investigación considerables, desafortunadamente estos no pueden explicar una observación crítica: a saber, que los injertos de PDC que crecen en condiciones no inductivas no pueden provocar la floración de PDL que también están bajo fotoperíodos no inductivos.

5.3.3. TANTO SUSTANCIAS PROMOTORAS COMO INHIBIDORAS PUEDEN ESTAR IMPLICADAS EN EL CONTROL DE LA FLORACIÓN.

En algunas plantas, por ejemplo en la variedad de soja (*Glycine max*) Biloxi, se deben quitar las hojas de las plantas receptoras de injertos, porque de lo contrario no florecen. Esta observación sugiere que en las plantas no inducidas las hojas pueden producir un inhibidor. De hecho, basándose en ello, algunos investigadores han concluido que no hay una sustancia promotora de la floración, sino más bien una sustancia que la inhibe a menos que sea eliminada. Actualmente hay pruebas que sugieren que, por lo menos en algunas plantas, tanto los inhibidores como los promotores intervienen en el control de la floración.

La prueba más convincente de la existencia de ambos tipos de sustancias inductoras e inhibidoras de la floración en la misma planta la aportaron los estudios experimentales de Antón Lang, de la Michigan State University, y de M. Kh. Chailakhyan y I. A. Frolova del Timiryazev Institute of Plant Physiology de Moscú. Estos investigadores escogieron tres clases de plantas de tabaco para sus estudios: la variedad cultivada Trabezond de *Nicotiana tabacum* (una PDN), la variedad Maryland Mamooth (una PDC), y *Nicotiana silvestris* (una PDL). Encontraron que la formación de flores en el tabaco de día neutro se aceleraba mediante injertos de PDL cuando los injertos estaban en condiciones de día largo, así como mediante injertos de PDC cuando los injertos estaban en condiciones de día corto. Cuando a una PDN se le injertaba una PDL y se exponía a días cortos, se inhibía en gran parte la floración de la planta receptora de día neutro (**Figura 5.13**). En cambio, cuando a una PDN se le injertaba una PDC y se exponía a días largos, la floración no se retrasaba o se retrasaba sólo un poco.

Estos resultados indican que las hojas de PDL son capaces de producir sustancias inductoras de la floración en condiciones de día largo y sustancias inhibidoras de la misma en condiciones de día corto, y que ambas sustancias pueden pasar a través de un injerto, un indicio de que son transportadas por toda la planta. En el caso del tabaco de día corto, cuando las hojas están expuestas a condiciones de día largo, aparentemente producen poca sustancia inhibidora de la floración o no la producen. En caso de que sean producidas por plantas de día corto, estas sustancias son mucho menos efectivas para retrasar la floración que las que producen las PDL.

Las evidencias de la existencia de sustancias tanto inductoras como inhibidoras de la floración son convincentes, pero, sin embargo, los intentos de aislarlas han sido, hasta el momento, infructuosos.

5.4. LA FOTOMORFOGÉNESIS

La fotomorfogénesis se define como el crecimiento y desarrollo directamente dependientes de la luz pero no relacionados con la fotosíntesis. Los fenómenos fotomorfogenéticos son respuestas de alta intensidad (HIR), y muestran dependencia de la irradiancia. Mientras que los fenómenos de inducción-reversión sólo responden a las variaciones de la longitud de onda de la luz, los de tipo HIR responden tanto a las variaciones de la longitud de onda como a la irradiancia total.

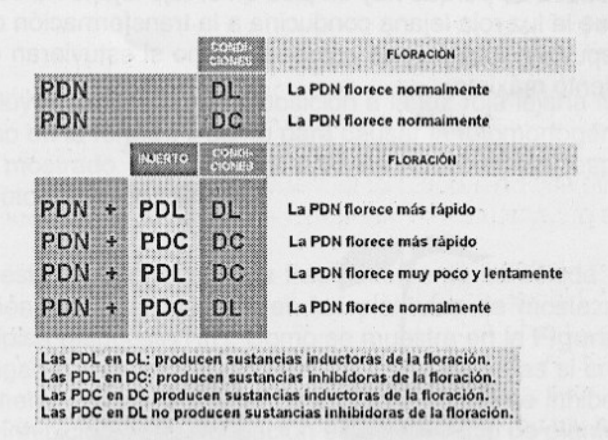


Figura 5.13. Representación esquemática de los experimentos de Lang y Chailakhyan con tres variedades de tabaco, la variedad cultivada Trabezond de Nicotiana tabacum (una PDN), la variedad Maryland Mamooth (una PDC), y Nicotiana silvestris (una PDL). Encontraron que la formación de flores en el tabaco de día neutro se aceleraba mediante injertos de PDL cuando los injertos estaban en condiciones de día largo, así como mediante injertos de PDC cuando los injertos estaban en condiciones de día corto. Cuando a una PDN se le injertaba una PDL y se exponía a días cortos, se inhibía en gran parte la floración de la planta receptora de día neutro. En cambio, cuando a una PDN se le injertaba una PDC y se exponía a días largos, la floración no se retrasaba o se retrasaba sólo un poco.

Algunos fenómenos HIR han sido estudiados en detalle. Por ejemplo, la elongación internodal, la expansión de los cotiledones en mostaza, y la biosíntesis de antocianos. Pero quizás, el ejemplo más sobresaliente de las repuestas HIR dependiente del fitocromo sea el ahilamiento. En la **Figura 5.14** vemos dos plantas con el mismo genotipo que fueron tratadas exactamente igual excepto en el hecho de que una de ellas, la que presenta ahilamiento, creció en oscuridad. El excesivo crecimiento de la planta ahilada se debe a un incremento en la expansión celular. En ambas plantas hay similar número de células y el mismo número de entrenudos. La HIR inhibe la elongación de los entrenudos.

En la **Figura 5.15** se muestra un espectro de acción para las HIR. Se muestran dos tipos de experimentos. En uno, las plantas cultivadas en la oscuridad se expusieron a cortos intervalos de luz de distintas longitudes de onda. La luz roja de 660 nm se muestra como la más efectiva para inhibir la elongación internodal. Esta respuesta del fitocromo se muestra similar a la que ocurre en los fenómenos de inducción-reversión en los que la forma P_r es fototransformada en la forma activa P_{fr}. Sin embargo, si las plantas ahiladas se someten a una exposición a la luz por períodos de 6 a 12 horas, el espectro de acción es bastante diferente. Aparecen máximos de respuesta a 550 nm (luz azul) y a 730 nm (luz roja lejana). La respuesta en los experimentos de larga exposición es la misma que la que se produce en los de corta exposición, es decir, la interrupción de la elongación internodal. Mohr y sus colaboradores propusieron en 1966 que la luz azul en las HIR produce P_{fr} que dispara la respuesta fotomorfogenética de la elongación internodal. La causa de porqué hay un pico en el rojo lejano no está enteramente clara puesto que la luz roja lejana conduciría a la transformación del P_{fr} a P_r, previniendo la respuesta. Las plantas actuarían como si estuvieran en la oscuridad con un ahilamiento máximo.

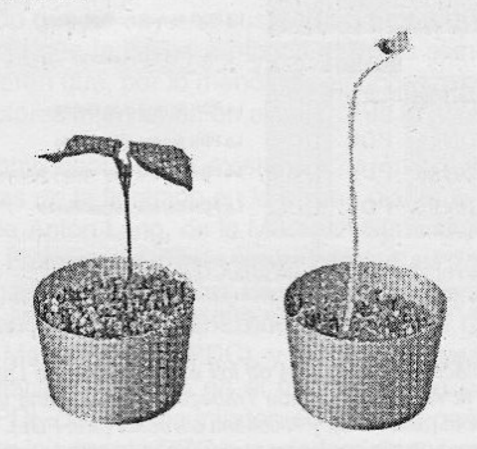


*Figura 5.14. El efecto de la luz en el desarrollo de las plantas. Las dos plantas surgieron a partir del mismo lote de semillas y crecieron bajo las mismas condiciones excepto en que la planta de la izquierda recibía una iluminación normal (períodos de día/noche) mientras que la de la izquierda se mantenía en total oscuridad. (Tomada de **Ting, I.P.**, 1982, "Plant Phisiology". Addison-Wesley Publishing Company).*

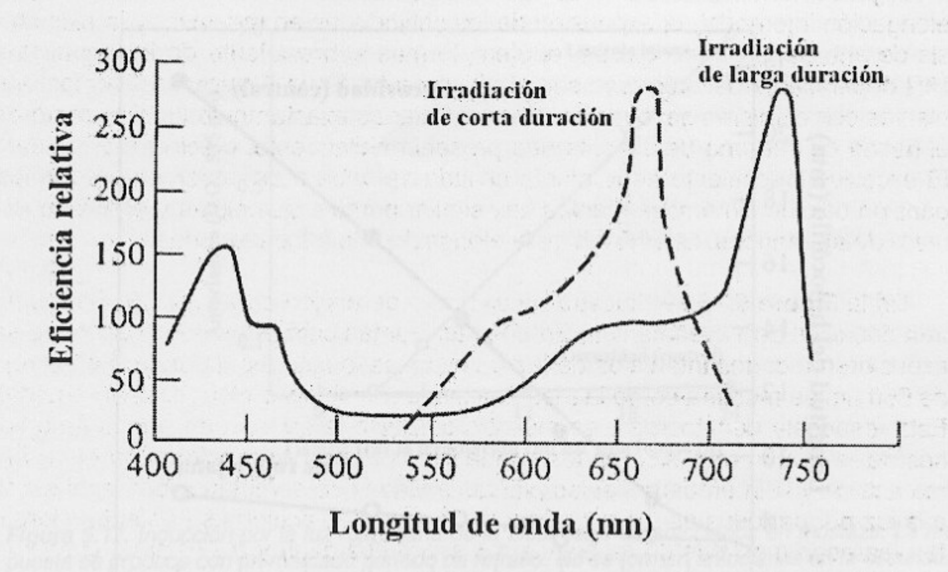


Figura 5.15. Espectro de acción para la respuesta morfogenética de alta intensidad. En períodos breves de iluminación (inducción) aparece un pico a 660 nm. En irradiaciones prolongadas (de 6 a 12 horas) el espectro de acción muestra picos en la zona del azul y del rojo lejano. (Figura modificada de ***Ting, I.P.****, 1982, "Plant Phisiology". Addison-Wesley Publishing Company).*

Mohr concluyó que una larga exposición a la luz roja lejana mantendría suficiente fitocromo en la forma P_{fr} como para causar la fotomorfogénesis. El espectro de acción mostrado en la **Figura 5.15** es típico de las respuestas de alta energía de la fotomorfogénesis.

Una respuesta fotomorfogenética frecuentemente estudiada es la inhibición de la elongación de los hipocótilos en las plántulas de mostaza. La inhibición muestra una típica respuesta HIR. Como se muestra en la **Figura 5.16**, los hipocótilos se elongarán linealmente durante al menos 18 horas si crecen en oscuridad. Si se someten a luz roja lejana de forma continua, se inhibe la elongación. El proceso de inhibición de la elongación en el hipocótilo de plántulas de lechuga muestra un espectro de acción que presenta un pico de eficiencia en la luz azul y roja lejana, típica de las HIR.

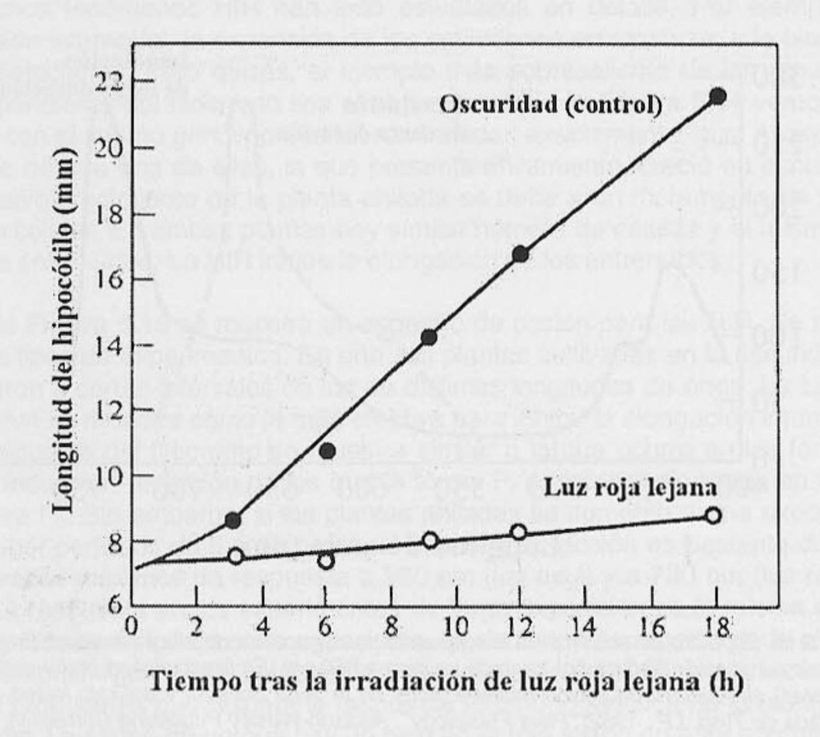


Figura 5.16. Experimento de Mohr que muestra como cortos pulsos de luz roja lejana inhiben la elongación del hipocótilo. La inhibición se produce con muy poco tiempo de retraso. (Figura modificada de ***Ting, I.P.****, 1982, "Plant Phisiology". Addison-Wesley Publishing Company).*

La elongación de los hipocótilos y de los entrenudos en las plántulas son buenos ejemplos de fotomorfogénesis controladas por el fitocromo. Las respuestas fotomorfogenéticas tienen lugar con muy poco o ningún retraso. Las respuestas fotomorfogenéticas positivas, tales como la expansión de los cotiledones y la biosíntesis de antocianos, tienen períodos de algunas horas (**Figura 5.16**).

En 1966 Mohr estudió la biosíntesis relacionada con el fitocromo de los antocianos en un intento de descifrar el mecanismo de acción del fitocromo. El crecimiento de las plántulas de mostaza en la oscuridad no producen niveles significantes de antocianos. Si embargo, la biosíntesis de antocianos comienza con un retraso de algunas horas (**Figura 5.17**). La biosíntesis muestra el fenómeno típico de inducción-reversión cuando se asocia con cortos períodos de luz roja y roja lejana. Además, la cantidad de antocianos producida es dependiente de la intensidad luminosa típica de las HIR. Por ello, la biosíntesis de antocianos es una típica respuesta HIR.

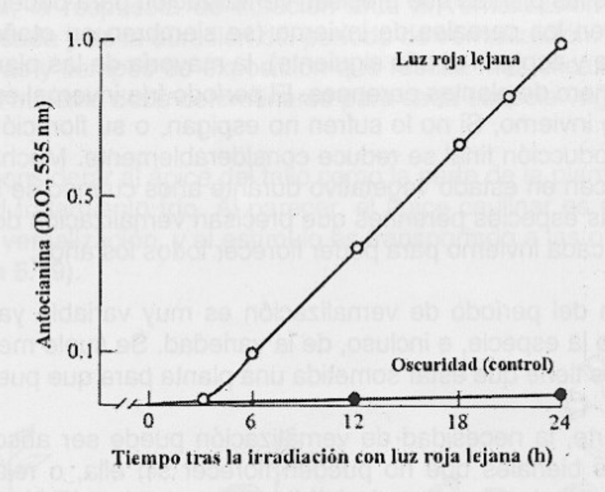


Figura 5.17. Inducción por la luz roja lejana de la biosíntesis de antocianos en mostaza. La respuesta se produce con un marcado período de retraso. No se forman antocianos en la oscuridad. (Figura modificada de Ting, I.P., 1982, "Plant Phisiology". Addison-Wesley Publishing Company).

5.5. VERNALIZACIÓN

Es un hecho comprobado que no todas las plantas florecen cuando se las somete al fotoperíodo adecuado. En muchas especies vegetales, la temperatura influye de manera decisiva sobre la iniciación y desarrollo de los órganos reproductores.

La necesidad que presentan ciertas plantas de pasar por un período de frío para poder florecer, quedó demostrada cuando se comprobó que en la mayoría de las plantas bienales un tratamiento frío artificial seguido por condiciones de fotoperíodo y temperaturas adecuadas permitía la floración de la planta durante la primera temporada de su crecimiento. De esta manera, se puede hacer florecer una planta bienal en el mismo período de tiempo requerido para la floración de plantas anuales.

La vernalización, término empleado para describir este fenómeno, ha sido definido como la adquisición de la capacidad de florecer, o su aceleración, mediante la utilización de un tratamiento frío. En sentido estricto, la vernalización es la promoción específica de la iniciación de la floración por un tratamiento frío previo durante la fase de semilla hidratada o de planta joven. La vernalización es sólo un proceso inductivo que determina una aptitud para la floración, pero, normalmente, ésta sólo se manifiesta bajo las condiciones de fotoperíodo y temperaturas adecuadas.

Son muchas las plantas que precisan vernalización para poder florecer. Entre ellas, se incluyen los cereales de invierno (se siembran en otoño, vegetan durante el invierno y espigan al año siguiente), la mayoría de las plantas bienales y un elevado número de plantas perennes. El período frío invernal es esencial para los cereales de invierno, Si no lo sufren no espigan, o su floración es escasa y, por tanto, la producción final se reduce considerablemente. Muchas plantas bienales permanecen en estado vegetativo durante años cuando se las protege del frío invernal. Las especies perennes que precisan vernalización deben pasar por un período frío cada invierno para poder florecer todos los años.

La duración del período de vernalización es muy variable ya que depende básicamente de la especie, e incluso, de la variedad. Se suele medir en "días de frío" a los cuales tiene que estar sometida una planta para que pueda florecer.

Por otra parte, la necesidad de vernalización puede ser absoluta, como en muchas plantas bienales que no pueden florecer sin ella, o relativa, como en muchas de las plantas anuales de hábito invernal, trigo (*Triticum aestivum*) y centeno (*Secale cereale*) entre otras, que responden cuantitativamente a la vernalización (**Figura 5.18**). En estas últimas plantas, la respuesta de floración es tanto más positiva cuanto mayor es el tiempo de vernalización. Así, la vernalización completa requiere unos 50 días de frío con temperaturas comprendidas entre –2 y 12º C (los óptimos de temperatura se sitúan entre 2 y 5 ºC).

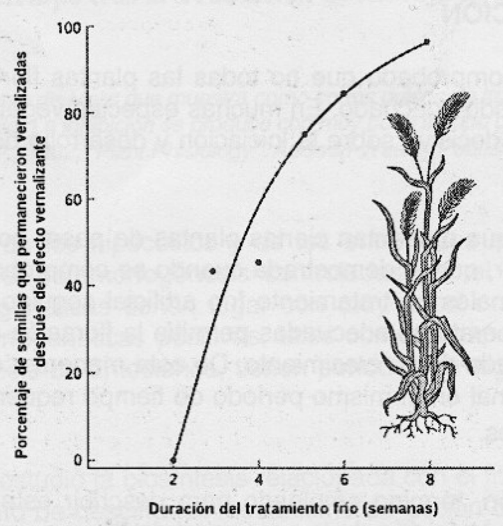


Figura 5.18. La duración de la exposición a bajas temperaturas afecta a la estabilidad del efecto vernalizante. En el caso del centeno (Secale cereale), cuanto más tiempo están expuestas las plantas al efecto vernalizante, mayor número de plantas permanece vernalizada aún cuando al estímulo vernalizante le siga un tratamiento desvernalizante. En la experiencia de la gráfica, semillas de centeno que habían sido embebidas en agua se expusieron a temperaturas de 5º C durante diferentes longitudes de tiempo (semanas), y a continuación, se expusieron a un efecto desvernalizante de 3 días a 35º C. (Figura modificada de ***Taiz, L. and Zeiger, E.****, 1998, "Plant Phisiology". 2nd ed., Sinauer Associates, Inc., Publishers).*

En general, la respuesta de floración ante la vernalización depende de la temperatura usada y de la duración del período de vernalización. La combinación de temperaturas y tiempos de exposición que resulta más eficaz para conseguir una respuesta máxima debe determinarse para cada especie vegetal.

Se suele considerar al ápice del tallo como la parte de la planta que responde inicialmente al tratamiento frío. Al parecer, el ápice caulinar es el punto de percepción de la vernalización, y el estímulo es transportado a las otras partes de la planta (**Figura 5.19**).

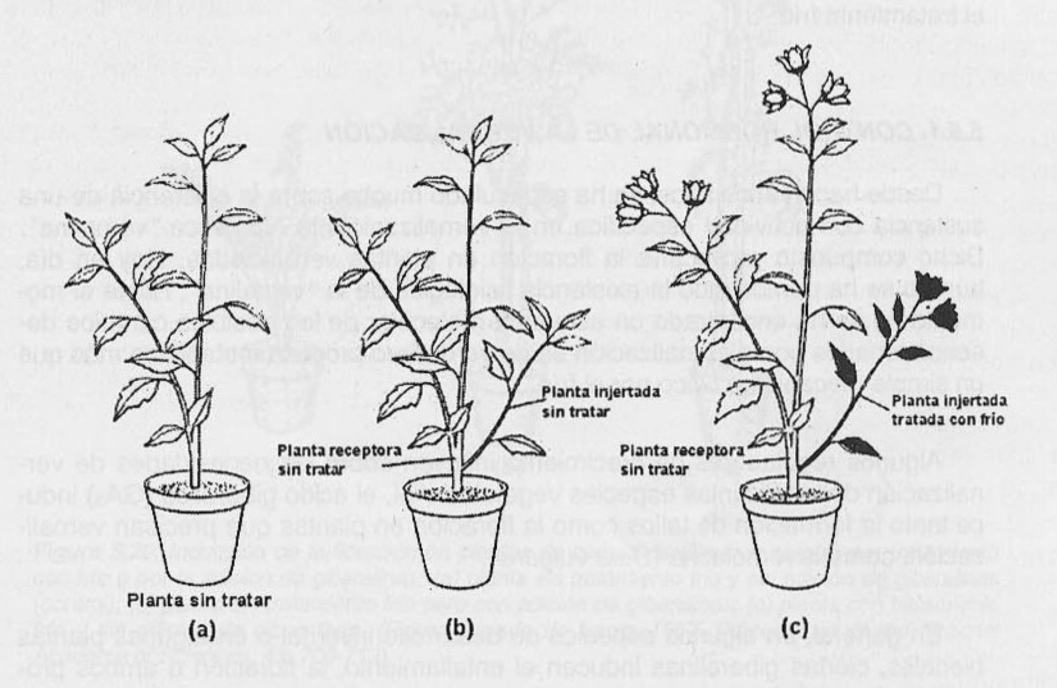


Figura 5.19. *La transmisión del factor inductor de la floración inducida por frío se transmite a través de los injertos. En (a) se muestra como una planta de beleño sin tratamiento vernalizante es incapaz de florecer. Si se le implanta un injerto de otra planta similar sin estimular por frío, tampoco florece la receptora (b). Sin embargo, si en la planta receptora (c) se implanta un injerto de una planta de beleño vernalizada (en oscuro) se produce la floración en ambas plantas, lo que indica que el efecto vernalizante se transmite a través de los injertos. (Figura modificada de **Ridge, I.** (ed.), 1991. "Plant Physiology". Hodder & Stougnton Ltd in association with The Open University (S203), Biology: Form and Function, Book 3).*

Sin embargo, se ha comprobado que los tejidos vegetales jóvenes aisladas de hojas, tallos y raíces pueden ser vernalizados. Si se les somete a un tratamiento frío, las plantas regeneradas a partir de ellos florecen normalmente. Por esto se ha llegado a la conclusión de que para la percepción de la vernalización

es necesaria la presencia de células en división, sin importar cuál sea su localización en la planta. En principio, cualquier tejido de la planta en fase de división celular es un punto de percepción potencial de la vernalización. Una vez que el tejido ha recibido el estímulo vernalizador la inducción es ya permanente. Es decir, la células originadas a partir de células vernalizadas mantienen siempre la vernalización. También los embriones de las semillas pueden ser vernalizados.

El efecto inductor de la vernalización puede ser revertido por un tratamiento inmediato posterior a altas temperaturas (próximas a 30º C). Este efecto se conoce como desvernalización y es tanto más intenso cuanto más corto haya sido el tratamiento frío.

5.5.1. CONTROL HORMONAL DE LA VERNALIZACIÓN

Desde hace varios años, se ha especulado mucho sobre la existencia de una sustancia con actividad específica en la vernalización, la hipotética "vernalina". Dicho compuesto provocaría la floración en plantas vernalizadas. Hoy en día, aún no se ha demostrado la existencia fisiológica de la "vernalina". Hasta el momento no se ha encontrado un esquema molecular de los posibles cambios desencadenados por la vernalización es un verdadero proceso metabólico más que un simple mecanismo físico por el frío.

Algunos reguladores de crecimiento influyen sobre las necesidades de vernalización de las distintas especies vegetales. Así, el ácido giberélico (GA_3) induce tanto la formación de tallos como la floración en plantas que precisan vernalización, como la remolacha (*Beta vulgaris*).

En general, en algunas especies de desarrollo invernal o en algunas plantas bienales, ciertas giberelinas inducen el entallamiento, la floración o ambos procesos, sin necesidad de que la planta tenga que pasar por un período de frío (**Figura 5.20**).

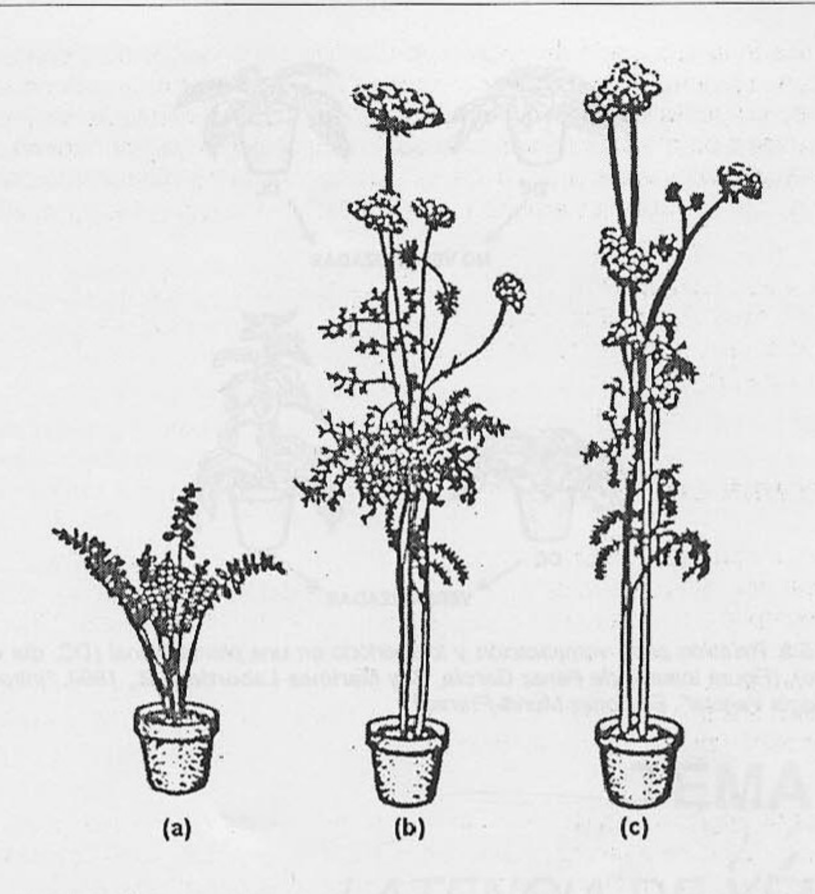


*Figura 5.20. Inducción de la floración en plantas de zanahoria (Daucus carota) por tratamiento con frío o por la adición de giberelinas: (a) planta sin tratamiento frío y sin adición de giberelinas (control); (b) planta sin tratamiento frío pero con adición de giberelinas; (c) planta con tratamiento frío y sin adición de giberelinas. (Figura tomada de **Lang**, 1957. Proceedings of the National Academy of Sciences, 43: 709-713)*

5.5.2. VERNALIZACIÓN Y FOTOPERÍODO

Uno de los numerosos puntos oscuros de la vernalización es su interacción con los requerimientos de fotoperíodo).

Aunque en muchas plantas, y en especial las de día largo, parece estar asociada la necesidad de vernalización con la de fotoperíodo (**Figura 5.21**) no se conocen aún con exactitud qué relación existe entre la inducción de la floración por vernalización y su inducción por fotoperíodo.

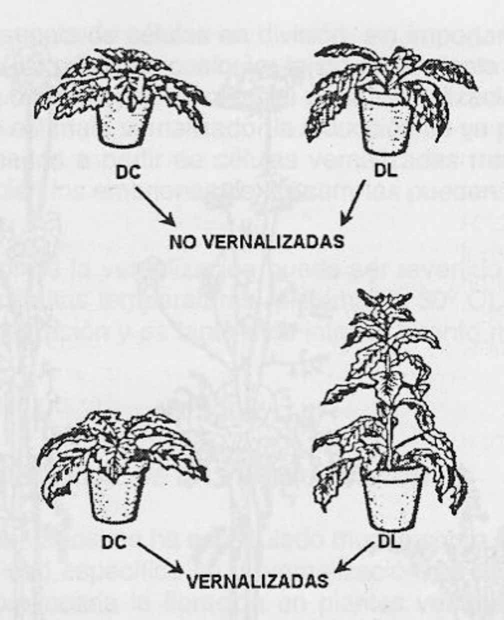


Figura 5.2. *Relación entre vernalización y fotoperíodo en una planta bienal (DC, día corto; DL, día largo). (Figura tomada de* ***Pérez García, F. y Martínez Laborde, J.B.****, 1994. "Introducción a la Fisiología Vegetal". Ediciones Mundi-Prensa)*

TEMA 6

LATENCIA DE YEMAS Y SEMILLAS

6.1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de las especies vegetales pasan durante un período de tiempo en estado de latencia o dormición. Durante ese período el crecimiento de una planta completa o de un determinado órgano vegetal queda temporalmente interrumpido.

En las plantas superiores, distintos órganos pueden entrar en estado durmiente: semillas, yemas, tubérculos, rizomas o bulbos. Esa adaptabilidad ha sido ampliamente estudiada, sobre todo, en yemas y semillas.

Por regla general, el estado de latencia suele coincidir con los períodos más desfavorables para el crecimiento y desarrollo de las plantas: bajas o altas temperaturas; períodos de sequía; fotoperíodos no apropiados, etc. Las plantas permanece en ese estado hasta que se vuelvan a dar las condiciones adecuadas para reanudar su desarrollo (**Figura 6.1**).

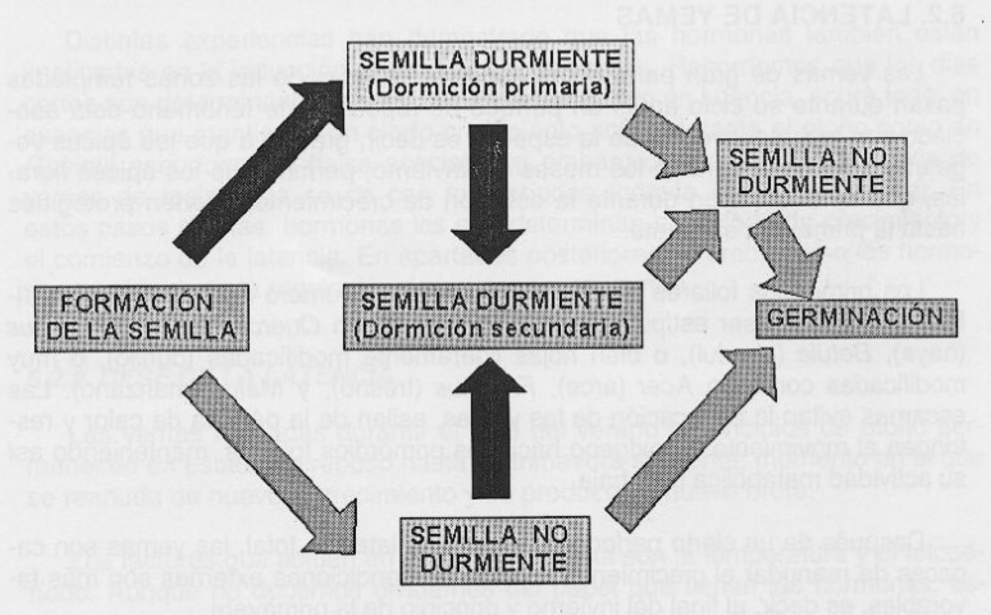


Figura 6.1. Esquema de los diferentes estados por los que puede pasar una semilla. (Figura modificada de **Pérez García, F. y Martínez-Laborde, J.B.**, 1994. "*Introducción a la Fisiología Vegetal*". Ediciones Mundi-Prensa)

La latencia se produce cuando las condiciones ambientales son adversas (**latencia impuesta o quiescencia**), como ocurre en las plantas de pradera y en malas hierbas anuales (*Senecio vulgaris*, *Capsella bursa-pastoris*); o bien por causas propias del órgano (**latencia innata o espontánea**), como por ejemplo de ello lo tenemos en los árboles de zonas templadas.

Podríamos pensar que las plantas entran en estado de latencia instantáneamente, pero no es así. Alcanzan dicho estado gradualmente, a lo largo de un determinado período de tiempo. Al principio, las plantas entran en una fase en la que si queremos, y mediante distintos tratamientos, pueden reanudar el crecimiento (**Fase de pre-latencia**). A continuación, pasan a la fase en la que no se puede reanudar el crecimiento (**Fase de latencia total**). Y finalmente, llegan al estado de salida de la latencia (**Fase de post-latencia**). Si los órganos no han terminado de salir de la latencia, podemos inducir que la planta vuelva a la fase de latencia total utilizando las condiciones ambientales apropiadas. En este caso diremos que la planta presenta una latencia inducida o secundaria, por que ha sido provocada.

A continuación pasaremos a describir la latencia en los órganos que mejor han sido estudiados, es decir en las yemas y en semillas.

6.2. LATENCIA DE YEMAS

Las yemas de gran parte delas especies leñosas de las zonas templadas pasan durante su ciclo anual un período de reposo. Este fenómeno está asociado con la supervivencia de la especie, es decir, gracias a que los ápices vegetativos reposan durante los meses del invierno, permite que los ápices florales, que se diferencian durante la estación de crecimiento, queden protegidos hasta la primavera siguiente.

Los primordios foliares están rodeados por un número de escamas (**catáfilos**) que pueden ser estípulas modificadas como en *Quercus* (encinas), *Fagus* (haya), *Betula* (abedul), o bien hojas ligeramente modificadas (durillo), o muy modificadas como en *Acer* (arce), *Fraxinus* (fresno), y *Malus* (manzano). Las escamas evitan la desecación de las yemas, asilan de la pérdida de calor y restringen el movimiento de oxígeno hacia los primordios foliares, manteniendo así su actividad metabólica muy baja.

Después de un cierto período en estado de latencia total, las yemas son capaces de reanudar el crecimiento, cuando las condiciones externas son más favorables, es decir, al final del invierno y principio de la primavera.

6.2.1. INDUCCIÓN DE LA LATENCIA

Los factores que inducen que las yemas entren en fase de latencia son: la longitud de los días (fotoperíodo) y las hormonas. Posiblemente, el primero de ellos es el factor más importante que interviene y controla la entrada en latencia de las yemas.

En muchas especies, los días largos promueven el crecimiento vegetativo, mientras que los días cortos producen una interrupción del crecimiento y la formación de yemas de resistencia. Ahora bien, algunas especies parecen ser insensibles al fotoperíodo, como las Oleáceas (olivo) y algunos árboles frutales cultivados: *Pyrus* (peral), *Malus* (manzano) y *Prunus* (albaricoquero, melocotonero, ciruelo, etc.).

Parece existir una longitud crítica del día por debajo de la cual se induce la dormición, y por encima de esa longitud crítica, ésta no se presenta. Al igual que en la inducción floral, en la inducción de la latencia de yemas juega un papel importante la duración del período oscuro. La interrupción del período oscuro con una breve iluminación provoca un retraso en la latencia, siendo la luz roja más efectiva; por lo que el fitocromo está implicado en la regulación de este proceso.

Distintas experiencias han demostrado que el lugar de percepción del estímulo fotoperiódico parece ser las yemas.

Distintas experiencias han demostrado que las hormonas también están implicadas en la inducción de la latencia en yemas. Recordemos que los días cortos son determinantes para que las yemas entren en latencia, sobre todo, en especies que mantienen un cierto crecimiento activo durante el otoño como en *Robinia pseudoacacia* (falsa acacia). Sin embargo, a veces la producción de yemas de resistencia se da con fotoperíodos todavía largos (junio-julio). En estos casos son las hormonas las que determinan el período de crecimiento y el comienzo de la latencia. En apartados posteriores veremos como las hormonas participan en la regulación de la latencia en yemas.

6.2.2. CESE DE LA LATENCIA

Las yemas formadas durante el final del verano o principios de otoño permanecen en estado de reposo hasta la primavera siguiente; momento en el que se reanuda de nuevo el crecimiento y se produce un nuevo brote.

Los factores que actúan en el cese la latencia son la temperatura y el fotoperíodo. Aunque no debemos olvidarnos del papel que tienen las hormonas, aspecto que trataremos posteriormente.

Temperatura: Muchas especies leñosas necesitan estar expuestas a un período de frío durante el invierno antes de que las yemas despierten del estado de latencia. La latencia disminuye a medida que finaliza el período invernal. Las temperaturas más efectivas para vencer la latencia son entre 0ºC-5ºC y los períodos de frío pueden variar entre 11-42 días, aproximadamente. Las yemas no reanudan el crecimiento inmediatamente, sino que permanecen en estado de post-latencia hasta que la temperatura aumente y se den las condiciones más templadas para el crecimiento y desarrollo de los nuevos brotes.

Fotoperíodo: Dado que las plantas responden al fotoperíodo, las condiciones de día largo o iluminación continua pueden provocar el cese de la latencia; incluso en plantas que no han pasado por un período de frío. Las plantas responden al fotoperíodo aunque no tengan hojas, por lo tanto, parece lógico pensar que son las escamas que recubren las yemas las que perciben el estímulo.

En las regiones templadas, el aumento en la longitud de los días junto con el aumento de la temperatura después del frío invernal, son los factores que permiten el cese de la latencia en yemas.

6.2.3. REGULACIÓN HORMONAL

Cada vez hay más estudios que apoyan la hipótesis de que las hormonas vegetales (fitohormonas) tienen un papel importante en la regulación de la latencia en las yemas.

Los estudios se basan en la aplicación exógena de hormonas, así como en establecer los niveles hormonales endógenos, y en observar su relación con un determinado estado de latencia.

a. <u>Aplicación exógena de hormonas</u>: Los resultados obtenidos tras la aplicación exógena de hormonas demuestran que las citoquininas y las giberelinas pueden vencer la latencia de las yemas. En algunos casos eliminan la necesidad de un período frío, mientras que en otros, las giberelinas pueden eliminar la necesidad de fotoperíodos largos. Por otra parte, la aplicación de inhibidores naturales induce la latencia, es decir, él ABA produce la formación de yemas durmientes bajo condiciones de día largo.

b. <u>Niveles hormonales endógenos y su relación con un estado de latencia determinado</u>: Las giberelinas tienen un papel importante como agente regulador de la latencia. Se ha visto que hay un aumento en el nivel endógeno de giberelinas durante el transcurso del invierno. Ejemplo de ello es la salida de la latencia de las yemas de patata, que va acompañada de un aumento de los niveles de giberelinas en los tubérculos. Respecto a las citoquininas, se ha observado un aumento de las mismas antes de la brotadura de las yemas en la primavera; aunque posiblemente sea un reflejo de la actividad renovadora de crecimiento y que no tenga nada que ver con el fin de la latencia. Los niveles endógenos de los inhibidores del crecimiento disminuye durante el transcurso del invierno. Además, esos niveles son más bajos en condiciones de día corto que de día largo. Hoy se sabe que él ABA es el inhibidor mayoritariamente extraído tanto de hojas como de yemas.

El hecho de que él ABA, las giberelinas y las citoquininas actúen como antagonistas en muchos tests biológicos, ha apoyado la hipótesis de que la latencia está regulada por la interacción entre inhibidores y promotores del crecimiento.

6.3. LATENCIA DE SEMILLAS

Se entiende por latencia o dormición al estado en el cual una semilla viable no germina aunque se la coloque en condiciones de humedad, temperatura y concentración de oxígeno idóneas para hacerlo.

De ello se deduce, que las semillas pueden mantener su viabilidad durante largos períodos de tiempo. Esta es una de las propiedades adaptativas más importantes que poseen los vegetales. Gracias a ello, las semillas sobreviven en condiciones desfavorables y adversas, aunque no indefinidamente.

Esta adaptabilidad se manifiesta de dos formas distintas, pero no excluyentes:

1. Las semillas no germinan por que las condiciones no son las más apropiadas para ello (latencia impuesta). Este punto será tratado ampliamente en el tema 7.

2. Las semillas no germinan, aunque se encuentren en un ambiente favorable, al existir ciertas condiciones propias de la semilla que se lo impiden (latencia innata). Este segundo mecanismo es el que, generalmente, se entiende como latencia de semillas.

La salida del estado de latencia requiere, en determinados casos, algunos estímulos ambientales, tales como luz o bajas temperaturas. En otros casos, las gruesas cubiertas seminales de las semillas constituyen una barrera impermeable al agua y a los gases o ejercen una resistencia física a la expansión de la radícula, que impide la germinación. La presencia de inhibidores de la germinación es otro de los condicionantes de la misma.

6.3.1. TIPOS DE LATENCIA

Los factores responsables de la latencia (latencia innata) son muy diversos, pero podemos agruparlos en tres grupos: exógena, endógena y latencia combinada.

6.3.1.1. Latencia exógena

Las semillas que presentan este tipo de latencia tienen un retraso en la germinación y es debido a propiedades físicas y químicas de las cubiertas seminales, por lo que podríamos denominarla **"latencia impuesta por las cubiertas seminales"**. En este caso el embrión aislado puede germinar con normalidad.

Los mecanismos que actúan en la latencia impuesta por las cubiertas seminales son:

a. *Impermeabilidad al agua*: En algunas familias (Leguminosas, Malváceas, Quenopodiáceas, Convolvuláceas, Liliáceas, Solanáceas) las cubiertas seminales actúan como barrera a la difusión del agua, debido a la presencia de cutícula y a un parénquima en empalizada muy desarrollado. En condiciones naturales, tanto la flora microbiana del suelo como los cambios de temperatura pueden desgastar las cubiertas, haciendo que se vuelvan permeables al agua. Sin embargo, en condiciones de laboratorio podemos acelerar el proceso mediante distintos tratamientos: abrasión con arena; aplicando ácido sulfúrico concentrado durante períodos cortos de tiempo; sumergiendo las semillas en agua hirviendo; mediante cambios bruscos de temperatura; etc. En un sentido más amplio, la impermeabilidad no tiene que estar ligada exclusivamente a las cubiertas seminales. Así, en algunas variedades de trigo (*Triticum*) se comprobó que la resistencia a la entrada de agua era debida al lento movimiento del agua en el endospermo, y no por una obstrucción de las cubiertas.

b. *Impermeabilidad al intercambio de gases*: A veces, son las diferentes capas de tejido que rodean al embrión las responsables de que no se produzca el intercambio de gases entre éste y el medio externo, dificultando así la entrada de O_2, como ocurre en *Cucurbita pepo* (calabaza). Esta barrera supone un impedimento para que se produzca la respiración, llegando a impedir la germinación de la semilla. La baja difusión del O_2 a través de la cubierta se debe, en la mayoría de los casos, a la presencia sobre la cubierta seminal de una capa mucilaginosa. En algunas semillas (*Rumex crispus*, *Betula*, *Avena fatua*) se puede inducir la germinación eliminando la testa o rompiéndola, o manteniendo la semilla intacta en concentraciones elevadas de O_2.

c. *Resistencia mecánica*: En las semillas con pericarpio duro, la radícula no pueden romperlo, ya que actúa como obstáculo mecánico a la germinación. Ejemplo de ello lo tenemos en las semillas de *Eleagnus angustifolia*. Podemos acelerar la germinación si eliminamos manualmente el pericarpio, o bien si lo sometemos a diferentes tratamientos térmicos.

d. *Presencia de inhibidores*: La presencia de inhibidores en las cubiertas seminales es el causante de que especies tropicales y subtropicales no puedan germinar en las estaciones secas. La naturaleza química de los inhibidores es muy variada, pero principalmente compuestos fenólicos. La eliminación manual de la cubierta o la lixiviación de los frutos es suficiente para que se inicie la germinación. En condiciones naturales esto ocurre durante las estaciones lluviosas (**Figura 6.2**).

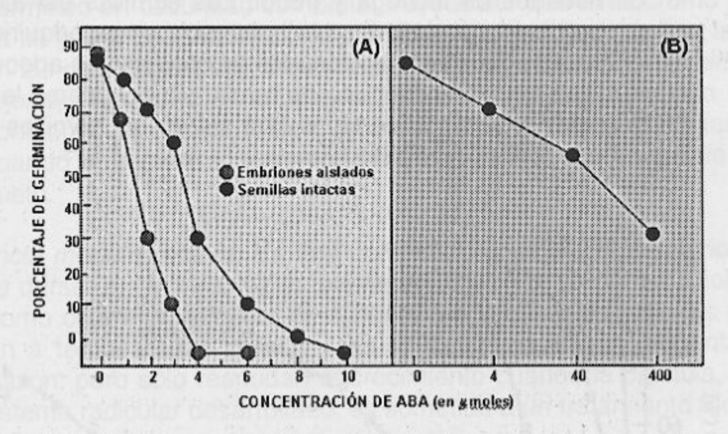


Figura 6.2. Efecto de las aplicaciones exógenas de ácido abcísico sobre la germinación de semillas. A, lechuga (Lactuca sativa) y B, arce (Arce pseudoplatanus). (Figura modificada de ***Pérez García, F. y Martínez-Laborde, J.B.****, 1994. "Introducción a la Fisiología Vegetal". Ediciones Mundi-Prensa)*

6.3.1.2. Latencia endógena

La latencia endógena viene determinada por características anatómicas, morfológicas y fisiológicas del propio embrión. En este caso el embrión es durmiente en sí mismo, y es incapaz de germinar incluso si es aislado de la semilla y colocado en condiciones favorables. Este tipo de latencia sólo puede eliminarse cuando existan factores que puedan provocar cambios en las características anteriores, tales como la estratificación a ciertas temperaturas, condiciones de iluminación, administración de sustancias de crecimiento, etc. Podemos distinguir tres tipos de latencia endógena, dependiendo de la característica que provoque tal dormición: *Latencia morfológica*, *latencia fisiológica*, y *latencia morfofisiológica*.

a. *Latencia morfológica*: Este tipo de latencia se debe a que el embrión no está desarrollado totalmente y, por lo tanto, la germinación no puede producirse hasta que el embrión complete su total desarrollo. Las Palmáceas, Araliáceas, Magnoliáceas y Ranunculáceas son ejemplos que presentan este tipo de latencia. La inmadurez del embrión se completa en condiciones de estratificación a temperaturas adecuadas durante días o meses. Además, esta inmadurez embrionaria suele estar asociada con algún tipo de latencia morfofisiológica.

b. *Latencia fisiológica*: Se debe a una disminución en la actividad de los embriones. Las semillas que la presentan pueden eliminarla mediante un almacenamiento en sitio seco, con tratamiento frío o con tratamiento luminoso.

1. Semillas que necesitan un almacenamiento seco: Lo presentan la mayoría de los cereales (arroz, cebada, trigo, avena) y algunas variedades de lechuga y trébol. Las semillas así almacenadas van perdiendo paulatinamente la latencia y van adquiriendo la capacidad de germinar al colocarlas en condiciones adecuadas. Es por lo tanto una latencia poco profunda, sin conocerse las causas que la provocan, ni los cambios que sufren las semillas tras el almacenamiento (**Figura 6.3**).

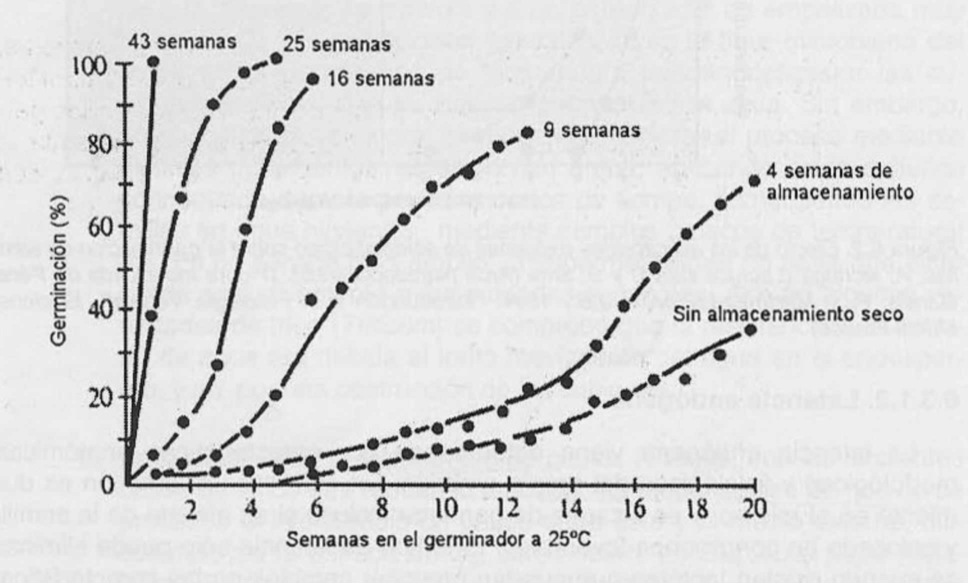


Figura 6.3. Efecto de la germinación en semillas de Impatiens balsamica almacenadas a temperatura ambiente y en seco. (Figura tomada de ***Barceló, J. et al.****, 1992. "Fisiología vegetal". Ed. Pirámide, 6ª ed.)*

2. Semillas con un requerimiento frío: Algunas especies que necesitan pasar un período frío son: *Corylus avellana* (avellano), *Fagus sylvatica* (haya), *Fraxinus excelsior* (fresno), *Betula* sp. (abedul), *Pinus* sp. (pino), *Malus* sp. (manzano), *Rosa* sp. (rosa), etc. Estas semillas si se siembran en otoño y quedan expuestas al frío invernal germinará a la primavera siguiente. Por ello, la práctica habitual es colocar las semillas imbibidas en agua entre capas de arena, y dejarlas así durante el tiempo que sea necesario, lo que varía según las especies (**Figura 6.4**).

3. Semillas sensibles a la luz: Existe un reducido número de especies en las que la germinación es inhibida por la luz (*Nemophilla insignis, Phacelia tanacetifolia, Lythrum salicaria* y *Phlox drumondii*). Para que estas semillas respondan a la luz han de estar imbibidas en agua y percibir un corto período de iluminación. Además, las temperaturas elevadas también les afectan. El almacenamiento en sitio seco permite que al cabo de un cierto tiempo las semillas germinen en oscuridad completa. Parece ser que el fitocromo juega un papel decisivo en la respuesta de las semillas a la luz, tanto en las que la germinación es inhibida como estimulada (reversión rojo/rojo lejano). El fitocromo suministra un sensor luminoso que contribuye a desencadenar todo el proceso de la germinación cuando la semilla se encuentra muy cerca o en la superficie del suelo.

c. *Latencia morfofisiológica*: Es una combinación de las dos anteriores. Suele darse una inmadurez embrionaria con algún problema fisiológico, como ocurre en semillas de *Viburnum opalus*. Estas semillas germinan a temperaturas cálidas y es el hipocótilo el que presenta la dormición; pero sólo reanudan el crecimiento cuando la plántula, con un sistema radicular desarrollado, es sometida a un tratamiento frío.

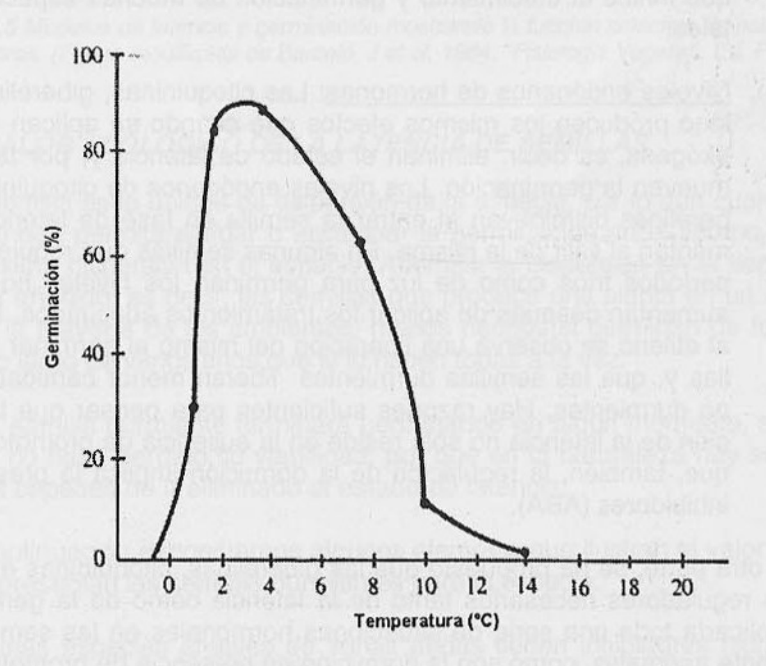


*Figura 6.4. Germinación de semillas de manzana (Malus domestica) después de enfriamiento, durante 85 días a diferentes temperaturas. (Figura tomada de **Barceló, J. et al.**, 1992. "Fisiología vegetal". Ed. Pirámide, 6ª ed.)*

6.3.1.3. Latencia combinada

Generalmente, en la mayoría de los casos, las semillas presentan una latencia combinada, es decir, una combinación de latencia endógena y exógena. Así, en semillas de *Tilia* (tilo), por ejemplo, la dormición fisiológica está asociada con una impermeabilidad al agua de las cubiertas seminales. En otros casos, hay una asociación entre endocarpo duro y latencia fisiológica como en *Crataegus* (majuelo), *Cornus* (cornejo) y *Rosa* (rosa).

6.3.2. REGULACIÓN HORMONAL

El estudio de la regulación hormonal en semillas la podemos abordar desde los mismos puntos de vista que la de yemas, es decir, mediante la aplicación exógena de hormonas y viendo los niveles endógenos de las mismas.

a. Aplicación exógena de hormonas: Se ha comprobado que las giberelinas, citoquininas y etileno, eliminan el estado de latencia de muchas semillas. Así, las giberelinas promueven la germinación en semillas que requieren un almacenamiento en sitio seco, o tratamiento frío o luminoso. Respecto al ácido abcísico (ABA) se ha observado que inhibe el crecimiento y germinación de muchas especies vegetales.

b. Niveles endógenos de hormonas: Las citoquininas, giberelinas y etileno producen los mismos efectos que cuando se aplican de forma exógena, es decir, eliminan el estado de latencia y, por tanto, promueven la germinación. Los niveles endógenos de citoquininas y giberelinas disminuyen al entrar la semilla en fase de latencia, y aumentan al salir de la misma. En algunas semillas que requieren tanto períodos fríos como de luz para germinar, los niveles hormonales aumentan después de aplicar los tratamientos adecuados. Respecto al etileno se observa una liberación del mismo al germinar las semillas y, que las semillas durmientes liberan menor cantidad que las no durmientes. Hay razones suficientes para pensar que la regulación de la latencia no sólo reside en la ausencia de promotores, sino que, también, la regulación de la dormición implica la presencia de inhibidores (ABA).

Por otra parte, se ha propuesto que las giberelinas, citoquininas e inhibidores son reguladores necesarios tanto de la latencia como de la germinación. Ello explicaría toda una serie de situaciones hormonales en las semillas aparentemente anómalas, como son la dormición en presencia de promotores, o la germinación en presencia de inhibidores (**Figura 6.5**). Era inimaginable pensar en un estado de latencia sin la presencia de inhibidores como ocurre en la avena (*Avena fatua*), o la germinación en presencia de inhibidores como ocurre en

Acer pseudoplatanus (arce). Además, el hecho de que el etileno actúe, en muchos casos, de forma similar a las citoquininas nos indica que éstas podrían provocar un aumento en la producción de etileno.

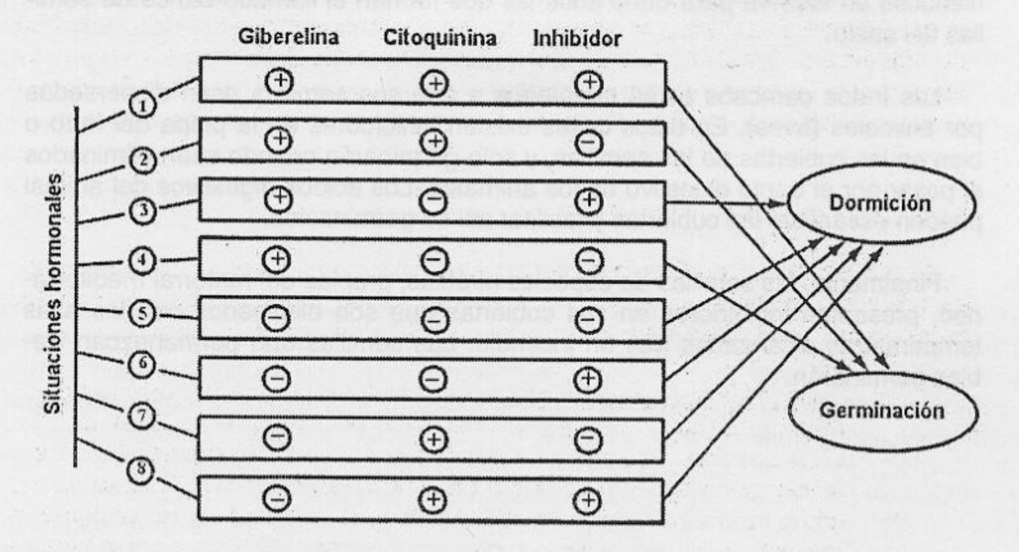


Figura 6.5 *Modelos de latencia y germinación mostrando la función selectiva de estimuladores e inhibidores. (Figura modificada de Barceló, J et ol, 1984. "Fisiología Vegetal". Ed. Pirámide).*

6.3.3. VALOR ECOLÓGICO DE LA LATENCIA DE SEMILLAS

La semilla es la unidad de dispersión de la especie, por lo que cualquier mecanismo que permita alargar o escalonar la germinación en el tiempo, facilitará una máxima dispersión en el espacio. Además, la dispersión en el tiempo tiene un valor añadido, es decir, las semillas que produce una planta en un año sufrirán, en la mayoría de los ambientes, menos riesgos si germinan de forma gradual a lo largo de varios años que si lo hacen todas a la vez.

Una semilla durmiente terminará germinando en algún momento, siempre y cuando no haya perdido su viabilidad, por que en la naturaleza hay suficientes factores capaces de ir eliminado el estado de latencia.

A continuación expondremos algunos ejemplos que ilustran el valor adaptativo que presentan las semillas durmientes para la especie.

Algunas especies anuales de zonas áridas tienen inhibidores hidrosolubles en la cubierta de las semillas. Cuando llueve, el agua los lava y elimina, permitiendo así la germinación, y lo hace en el momento en el que la plántula encuentra en el suelo el agua suficiente para su desarrollo.

Muchas semillas de malas hierbas necesitan luz para germinar, por ello después de cada labor agrícola, las que queden en la superficie del suelo se verán favorecidas. De este modo la germinación se produce escalonadamente, manteniéndose en reserva para otros años las que forman el llamado banco de semillas del suelo.

Los frutos carnosos están adaptados a que sus semillas sean dispersadas por animales (aves). En estos casos existen inhibidores en la pulpa del fruto o bien en las cubiertas de las semillas, y sólo germinarán cuando sean eliminados al pasar por el tracto digestivo de los animales. Los ácidos digestivos del animal pueden escarificar las cubiertas y facilitar así su germinación.

Finalmente, las semillas de especies pirófitas, propias del matorral mediterráneo, presentan inhibidores en sus cubiertas que son eliminados con las altas temperaturas alcanzadas tras un incendio. Las semillas que permanezcan viables germinarán.

TEMA 7

GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS

7.1. INTRODUCCIÓN

Las semillas son la unidad de reproducción sexual de las plantas y tienen la función de multiplicar y perpetuar la especie a la que pertenecen. Además, es uno de los elementos más eficaces para que la especie se disperse, tanto en el tiempo como en el espacio. Para que la semilla cumpla con su objetivo es necesario que el embrión se transforme en una plántula, que sea capaz de valerse por si misma y, finalmente convertirse en una planta adulta. Todo ello comprende una serie de procesos metabólicos y morfogenéticos cuyo resultado final es la germinación de las semillas.

7.2. PROCESO DE GERMINACIÓN

Para que el proceso de germinación, es decir, la recuperación de la actividad biológica por parte de la semilla, tenga lugar, es necesario que se den una serie de condiciones ambientales favorables como son: un sustrato húmedo, suficiente disponibilidad de oxígeno que permita la respiración aerobia y, una temperatura adecuada para los distintos procesos metabólicos y para el desarrollo de la plántula.

La absorción de agua por la semilla desencadena una secuencia de cambios metabólicos, que incluyen la respiración, la sintesis proteica y la movilización de reservas. A su vez la división y el alargamiento celular en el embrión provoca la rotura de las cubiertas seminales, que generalmente se produce por la emergencia de la radícula.

Sin embargo, las semillas de muchas especies son incapaces de germinar, incluso cuando se encuentran en condiciones favorables. Esto es debido a que las semillas se encuentran en estado de latencia. Por ello, mientras no se den las condiciones adecuadas para la germinación, la semilla se mantendrá latente durante un tiempo variable, dependiendo de la especie, hasta que llegado un momento, pierda su capacidad de germinar.

Cuando una semilla germina, la primera estructura que emerge, de la mayoría de las especies, después de la rehidratación de los diferentes tejidos es la radícula. En aquellas semillas, en las que la radícula no es el primer acontecimiento morfológico, se consideran otros criterios para definir la germinación como: la emergencia del coleoptilo en granos de cereales; la obtención de plantas normales; o el aumento de la actividad enzimática, tras la rehidratación de los tejidos.

En el proceso de germinación podemos distinguir tres fases (**Figura 7.1**):

a) **Fase de hidratación:** La absorción de agua es el primer paso de la germinación, sin el cual el proceso no puede darse. Durante esta fase se produce una intensa absorción de agua por parte de los distintos tejidos que forman la semilla. Dicho incremento va acompañado de un aumento proporcional en la actividad respiratoria.

b) **Fase de germinación:** Representa el verdadero proceso de la germinación. En ella se producen las transformaciones metabólicas, necesarias para el correcto desarrollo de la plántula. En esta fase la absorción de agua se reduce considerablemente, llegando incluso a detenerse.

c) **Fase de crecimiento:** Es la última fase de la germinación y se asocia con la emergencia de la radícula (cambio morfológico visible). Esta fase se caracteriza porque la absorción de agua vuelve a aumentar, así como la actividad respiratoria.

La duración de cada una de estas fases depende de ciertas propiedades de las semillas, como su contenido en compuestos hidratables y la permeabilidad de las cubiertas al agua y al oxígeno. Estas fases también están afectadas por las condiciones del medio, como el nivel de humedad, las características y composición del sustrato, la temperatura, etc. Otro aspecto interesante es la relación de estas fases con el metabolismo de la semilla. La primera fase se produce tanto en semillas vivas y muertas y, por tanto, es independiente de la actividad metabólica de la semilla. Sin embargo, en las semillas viables, su metabolismo se activa por la hidratación. La segunda fase constituye un período de metabolismo activo previo a la germinación en las semillas viables o de inicio en las semillas muertas. La tercera fase se produce sólo en las semillas que germinan y obviamente se asocia a una fuerte actividad metabólica que comprende el inicio del crecimiento de la plántula y la movilización de las reservas. Por tanto los factores externos que activan el metabolismo, como la temperatura, tienen un efecto estimulante en la última fase.

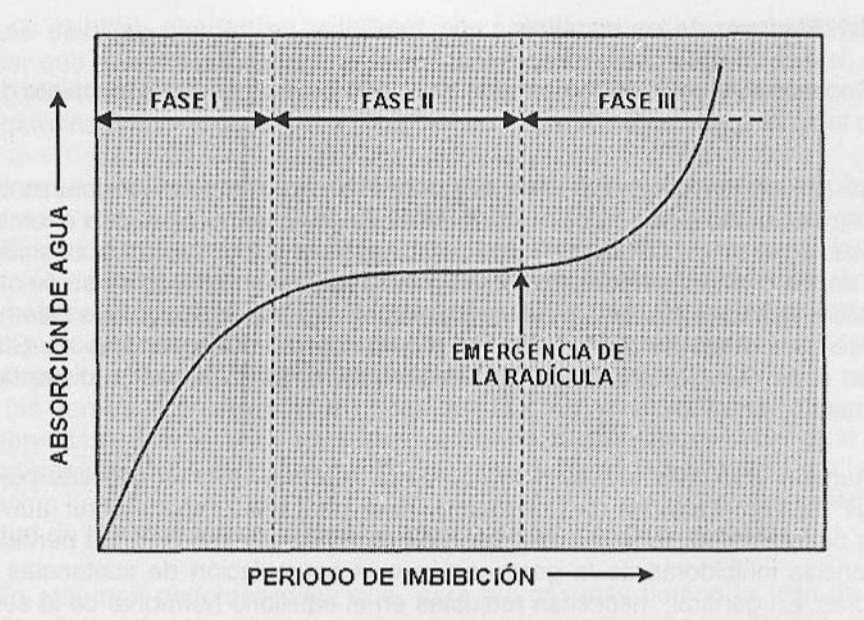


Figura 7.1. Esquema de las fases de la imbibición de agua por una semilla, medida mediante el incremento en peso fresco durante el proceso de germinación (Figura modificada de ***Azcón-Bieto, J. y Talón, M.*** *1993. "Fisiología y Bioquímica Vegetal". Interamericana/ McGraw-Hill.).*

En las dos primeras fases de la germinación los procesos son reversibles, a partir de la fase de crecimiento se entra en una situación fisiológica irreversible. La semilla que haya superado la fase de germinación tendrá que pasar a la fase de crecimiento y originar una plántula, o por el contrario morir.

7.3. FACTORES QUE AFECTAN A LA GERMINACIÓN

Los factores que afectan a la germinación los podemos dividir en dos tipos:

- Factores internos (intrínsecos): propios de la semilla; madurez y viabilidad de las semillas.
- Factores externos (extrínsecos): dependen del ambiente; agua, temperatura y gases.

7.3.1. FACTORES INTERNOS

Entre los factores internos que afectan a la germinación estudiaremos la madurez que presentan las semillas y la viabilidad de las mismas.

7.3.1.1. Madurez de las semillas

Decimos que una semilla es madura cuando ha alcanzado su completo desarrollo tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico.

La madurez morfológica se consigue cuando las distintas estructuras de la semilla han completado su desarrollo, dándose por finalizada cuando el embrión ha alcanzado su máximo desarrollo. También, se la relaciona con la deshidratación de los diferentes tejidos que forman la semilla. La madurez se suele alcanzar sobre la misma planta, sin embargo, existen algunas especies que diseminan sus semillas antes de que se alcance, como ocurre en las semillas de *Ginkgo biloba* o de muchas orquídeas, que presentan embriones muy rudimentarios, apenas diferenciados.

Aunque la semilla sea morfológicamente madura, muchas de ellas pueden seguir siendo incapaces de germinar porque necesitan experimentar aún una serie de transformaciones fisiológicas. Lo normal es que requieran la pérdida de sustancias inhibidoras de la germinación o la acumulación de sustancias promotoras. En general, necesitan reajustes en el equilibrio hormonal de la semilla y/o en la sensibilidad de sus tejido para las distintas sustancias activas.

La madurez fisiológica se alcanza al mismo tiempo que la morfológica, como en la mayoría de las especies cultivadas; o bien puede haber una diferencia de semanas, meses y hasta años entre ambas.

7.3.1.2. Viabilidad de las semillas

La viabilidad de las semillas es el período de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. Es un período variable y depende del tipo de semilla y de las condiciones de almacenamiento.

Atendiendo a la longevidad de las semillas, es decir, el tiempo que las semillas permanecen viables, pueden haber semillas que germinan, todavía, después de decenas o centenas de años; se da en semillas con una cubierta seminal dura como las leguminosas. El caso más extremo de retención de viabilidad es el de las semillas de *Nelumbo nucifera* encontradas en Manchuria con una antigüedad de unos 250 a 400 años.

En el extremo opuesto tenemos las que no sobreviven más que algunos días o meses, como es el caso de las semillas de arce (*Acer*), sauces (*Salix*) y chopos (*Populus*) que pierden su viabilidad en unas semanas; o los olmos (*Ulmus*) que permanecen viables 6 meses.

En general, la vida media de una semilla se sitúa entre 5 y 25 años.

Las semillas pierden su viabilidad por causas muy diversas. Podríamos pensar que mueren porque agotan sus reservas nutritivas, pero no es así, sino que conservan la mayor parte de las mismas cuando ya han perdido su capacidad germinativa.

Una semilla será más longeva cuanto menos activo sea su metabolismo. Esto, a su vez, origina una serie de productos tóxicos que al acumularse en las semillas produce a la larga efectos letales para el embrión. Para evitar la acumulación de esas sustancias bastará disminuir aún más su metabolismo, con lo cual habremos incrementado la longevidad de la semilla. Ralentizar el metabolismo puede conseguirse bajando la temperatura y/o deshidratando la semilla. Las bajas temperaturas dan lugar a un metabolismo mucho más lento, por lo que las semillas conservadas en esas condiciones viven más tiempo que las conservadas a temperatura ambiente. La deshidratación, también alarga la vida de las semillas, más que si se conservan con su humedad normal. Pero la desecación tiene unos límites; por debajo del 2%-5% en humedad se ve afectada el agua de constitución de la semilla, siendo perjudicial para la misma.

En resumen podemos decir que, para alargar más tiempo la vida de una semilla, ésta debe conservarse en las siguientes condiciones: mantenerla seca, dentro de unos límites; temperaturas bajas y, reducir al mínimo la presencia de oxígeno en el medio de conservación.

7.3.2. FACTORES EXTERNOS

Entre los factores ambientales más importantes que inciden en el proceso de germinación destacamos: humedad, temperatura y gases.

7.3.2.1. Humedad

La absorción de agua es el primer paso, y el más importante, que tiene lugar durante la germinación; porque para que la semilla recupere su metabolismo es necesaria la rehidratación de sus tejidos.

La entrada de agua en el interior de la semilla se debe exclusivamente a una diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el medio que le rodea. En condiciones normales, este potencial hídrico es menor en las semillas secas que en el medio exterior. Por ello, hasta que emerge la radícula, el agua llega al embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal; siempre a favor de un gradiente de potencial hídrico.

Aunque es necesaria el agua para la rehidratación de las semillas, un exceso de la misma actuaría desfavorablemente para la germinación, pues dificultaría la llegada de oxígeno al embrión.

7.3.2.2. Temperatura

La temperatura es un factor decisivo en el proceso de la germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la rehidratación. La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo y un mínimo de temperatura, existiendo un óptimo intermedio. Del mismo modo, en el proceso de germinación pueden establecerse unos límites similares. Por ello, las semillas sólo germinan dentro de un cierto margen de temperatura. Si la temperatura es muy alta o muy baja, la geminación no tiene lugar aunque las demás condiciones sean favorables.

La temperatura mínima sería aquella por debajo de la cual la germinación no se produce, y la máxima aquella por encima de la cual se anula igualmente el proceso. La temperatura óptima, intermedia entre ambas, puede definirse como la más adecuada para conseguir el mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo posible (**Figura 7.2**).

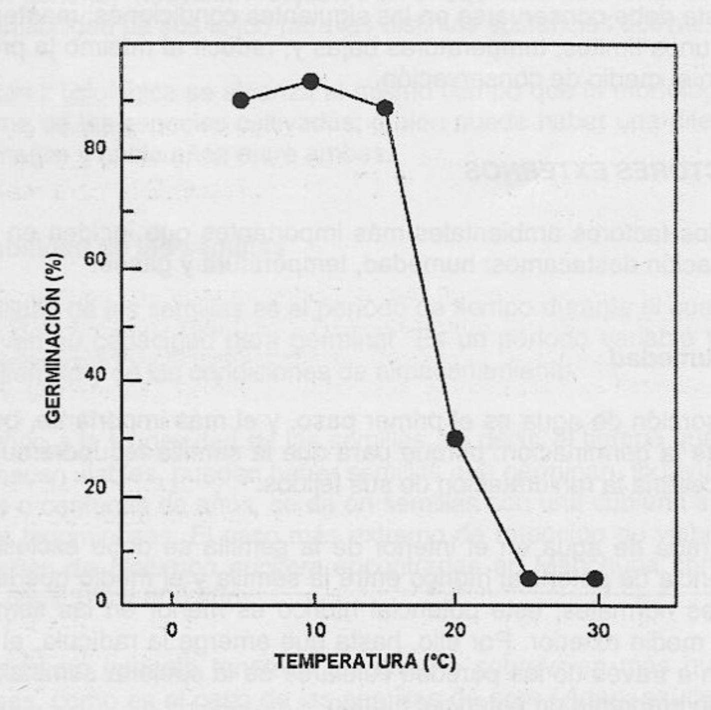


***Figura 7.2.** Efecto de la temperatura sobre la germinación de granos de trigo (Triticum sativum) Figura modificada de **Pérez García, F. y Martínez-Laborde, J.B.**, 1994. "Introducción a la Fisiología Vegetal". Ediciones Mundi-Prensa).*

Las temperaturas compatibles con la germinación varían mucho de unas especies a otras. Sus límites suelen ser muy estrechos en semillas de especies adaptadas a hábitats muy concretos, y más amplios en semillas de especies de amplia distribución.

Las semillas de especies tropicales suelen germinar mejor a temperaturas elevadas, superiores a 25 ºC. Las máximas temperaturas están entre 40 ºC y 50 ºC (*Cucumis sativus,* pepino, 48 ºC). Sin embargo, las semillas de las especies de las zonas frías germinan mejor a temperaturas bajas, entre 5 ºC y 15 ºC. Ejemplo de ello son *Fagus sylvatica* (haya), *Trifolium repens* (trébol), y las especies alpinas, que pueden germinar a 0 ºC. En la región mediterránea, las temperaturas más adecuadas para la germinación son entre 15 ºC y 20 ºC.

Por otra parte, se sabe que la alternancia de las temperaturas entre el día-noche actúan positivamente sobre las etapas de la germinación. Por lo que el óptimo térmico de la fase de germinación y el de la fase de crecimiento no tienen por que coincidir. Así, unas temperaturas estimularían la fase de germinación y otras la fase de crecimiento.

7.3.2.3. Gases

La mayor parte de las semillas requieren para su germinación un medio suficientemente aireado que permita una adecuada disponibilidad de O_2 y CO_2. De esta forma el embrión obtiene la energía imprescindible para mantener sus actividades metabólicas.

La mayoría de las semillas germinan bien en atmósfera normal con 21% de O_2 y un 0.03% de CO_2. Sin embargo, existen algunas semillas que aumentan su porcentaje de germinación al disminuir el contenido de O_2 por debajo del 20%. Los casos mejor conocidos son: *Typha latifolia* (espadaña) y *Cynodon dactylon* (grama), que germinan mejor en presencia de un 8% de O_2. Se trata de especies que viven en medios acuáticos o encharcados, donde la concentración de este gas es baja. El efecto del CO_2 es el contrario del O_2, es decir, las semillas no pueden germinar se aumenta la concentración de CO_2.

Para que la germinación tenga éxito, el O_2 disuelto en el agua de imbibición debe poder llegar hasta el embrión. A veces, algunos elementos presentes en la cubierta seminal como compuestos fenólicos, capas de mucílago, macroesclereidas, etc. pueden obstaculizar la germinación de la semilla por que reducen la difusión del O_2 desde el exterior hacia el embrión.

Además, hay que tener en cuenta que, la cantidad de O_2 que llega al embrión disminuye a medida que aumenta disponibilidad de agua en la semilla.

A todo lo anterior hay que añadir que la temperatura modifica la solubilidad del O_2 en el agua que absorbe la semilla, siendo menor la solubilidad a medida que aumenta la temperatura.

7.4. METABOLISMO DE LA GERMINACIÓN

Los procesos metabólicos relacionados con la germinación que han sido más estudiados son la respiración y la movilización de las sustancias de reserva.

7.4.1. RESPIRACIÓN

Tres rutas respiratorias, glucolisis, ciclo de las pentosas fosfato y ciclo de Krebs son funcionales en las semillas imbibidas. Estas tres rutas producirán una serie de compuestos intermediarios del metabolismo vegetal, así como considerables cantidades de energía y poder reductor. El objetivo principal del proceso respiratorio es la formación de ATP y pirimidín nucleótidos, necesarios para la intensa actividad metabólica que tiene lugar durante la germinación.

La semilla seca muestra una escasa actividad respiratoria, aumentando el consumo de O_2, después de iniciada la imbibición. A partir de este momento el proceso respiratorio de las semillas puede dividirse en cuatro fases:

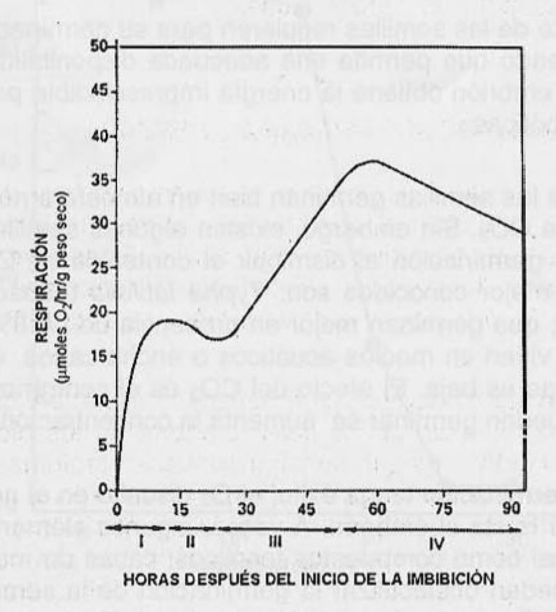


Figura 7.3. Evolución de la actividad respiratoria durante la germinación de las semillas de guisante (Pisum sativum). (Figura modificada de ***Azcón-Bieto, J. y Talón, M.*** *1993. "Fisiología y Bioquímica Vegetal". Interamericana/ McGraw-Hill.)*

Fase I: Se caracteriza por un rápido incremento en la respiración, que generalmente se produce antes de transcurridas 12h desde el inicio de la imbibición. El aumento en la actividad respiratoria es proporcional al incremento de la hidratación de los tejidos de la semilla. El principal sustrato utilizado en esta fase es, posiblemente, la sacarosa.

Fase II: La actividad respiratoria se estabiliza entre las 12 y 24h desde el inicio de la imbibición. Probablemente las cubiertas seminales, que todavía permanecen intactas, limitan la entrada de O_2. La eliminación de la testa puede acortar o anular esta fase.

Fase III: Se produce un segundo incremento en la actividad respiratoria, que se asocia a la mayor disponibilidad de O_2, como consecuencia de la ruptura de la testa producida por la emergencia de la radícula. Otro factor que contribuye a ese aumento es la actividad de las mitocondrias, recientemente sintetizadas en las células del eje embrionario.

Fase IV: En esta última fase tiene lugar una acusada disminución de la respiración, que coincide con la desintegración de los cotiledones, después de que han exportado las reservas almacenadas.

7.4.2. MOVILIZACIÓN DE SUSTANCIAS DE RESERVA

Las semillas contienen cantidades relativamente importantes de reservas alimenticias, que permitirán el crecimiento y el desarrollo de la plántula hasta que ésta sea capaz de alimentarse por sí misma. Estas reservas se encuentran en su mayor parte, formando cuerpos intracelulares que contienen lípidos, proteínas, carbohidratos y compuestos inorgánicos. (**Tabla 7.1**)

Según el tipo de compuesto que almacenan, existen grandes diferencias entre las semillas. Así, en los cereales predominan los hidratos de carbono, especialmente almidón, aunque también contienen proteínas y lípidos. En muchas semillas de importancia agrícola (avellana, almendro, ricino, girasol, soja, etc) se almacenan, mayoritariamente, lípidos (triglicéridos) como compuestos de reserva. Además, estas semillas suelen tener un alto contenido en proteínas. Un tercer grupo de semillas, entre las que se encuentran las leguminosas, almacenan proteínas junto con cantidades considerables de almidón, siendo en éstas los lípidos muy escasos.

Especie	Porcentaje de peso seco		
	Carbohidratos	Proteínas	Lípidos
Zea mays	70	11	5
Avena sativa	66	13	8
Triticum aestivum	75	12	2
Linum usitatissimum	24	24	36
Ricinus communis	trazas	18	64
Brassica napus	27	28	34
Pisum sativum	52	24	6
Cicer arietinum	67	17	6
Lens culinaris	60	23	2

Tabla 7.1. *Composición química de algunas semillas (Tomada de **Barceló, J. et al.** 1984. "Fisiología Vegetal". Ediciones Pirámide, S.A.)*

Los compuestos de reserva pueden estar almacenados en el embrión (cotiledones) o en tejidos extraembrionarios, principalmente en el endospermo.

Al iniciarse la germinación de las semillas, y cuando las células están suficientemente hidratadas, se produce una activación de la síntesis proteica y, por lo tanto, la formación de enzimas hidrolíticas que son las que promueven la movilización de las sustancias de reserva.

La movilización de las reservas requiere un proceso previo de hidrólisis para liberar los compuestos de menor peso molecular, que pueden ser utilizados durante el crecimiento inicial de la plántula. Además, en muchos casos, los productos de la hidrólisis sufren una serie de transformaciones metabólicas antes de ser transportados al eje embrionario en desarrollo.

Carbohidratos: El hidrato de carbono más extendido en las semillas, como principal reserva energética, es el almidón. Está formando por los denominados granos de almidón (corpúsculos intracelulares). Dichos granos muestran una apariencia característica en cada especie, pudiendo tener formas esféricas, elípticas, poligonales, etc. En la hidrólisis del almidón sus componentes (la amilosa, y la amilopectina) son hidrolizados por la α-amilasa y la β- amilasa para dar glucosa. La degradación del almidón se incrementa progresivamente durante el proceso de germinación, primero lentamente, y luego de una forma más rápida que termina con la práctica desaparición del polisacárido.(**Figura 7.4**)

Lípidos: Los lípidos constituyen un grupo de sustancias químicamente heterogéneas que tienen en común su solubilidad en disolventes orgánicos (éter de petróleo, hexano o cloroformo). Los lípidos de reserva predominantes en las semillas son los triglicéridos. En la movilización y metabolismo de las reservas

lipídicas están implicados tres tipos de orgánulos: las vesículas que contienen aceites almacenados (cuerpos lipídicos), los glioxisomas y las mitocondrias. La degradación y metabolismo de los lípidos se produce en varias fases (**Figura 7.5**):

1. Lipólisis de los triglicéridos para producir ácidos grasos y glicerol. Se produce en los cuerpos lipídicos por acción de las lipasas que rompen los enlaces éster.

2. Oxidación de los ácidos grasos a acetil CoA y posterior formación de succinato en los glioxisomas.

3. Conversión de succinato a oxalacetato en las mitocondrias.

4. Formación de sacarosa a partir de oxalacetato en el citoplasma.

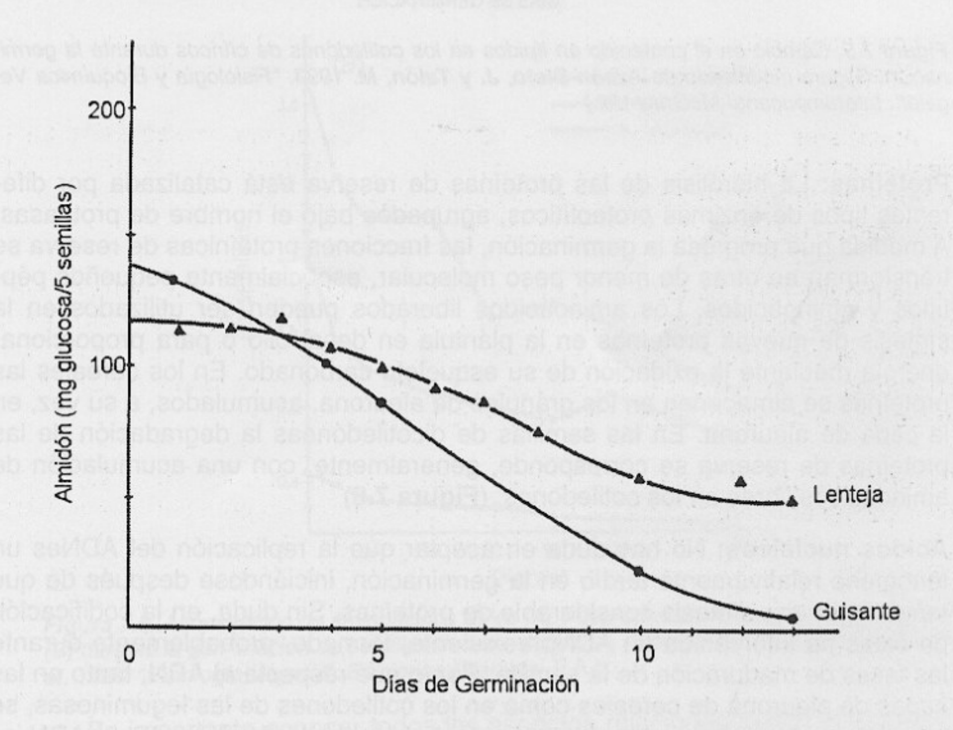


***Figura 7.4.** Variaciones en el contenido de almidón de los cotiledones en la germinación de semillas. (Figura modificada de **Barceló, J. et al.** 1984. "Fisiología Vegetal". Ediciones Pirámide, S.A.)*

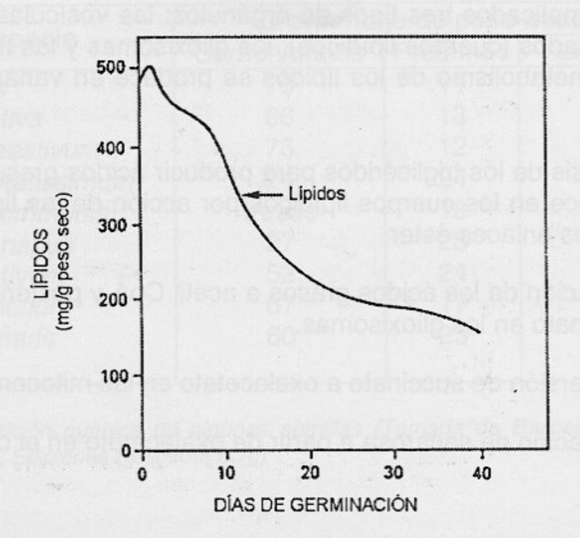


***Figura 7.5.** Cambio en el contenido en lípidos en los cotiledones de cítricos durante la germinación. (Figura modificada de **Azcón-Bieto, J. y Talón, M.** 1993. "Fisiología y Bioquímica Vegetal". Interamericana/ McGraw-Hill.)*

Proteínas: La hidrólisis de las proteínas de reserva está catalizada por diferentes tipos de enzimas proteolíticos, agrupados bajo el nombre de proteasas. A medida que progresa la germinación, las fracciones proteínicas de reserva se transforman en otras de menor peso molecular, especialmente pequeños péptidos y aminoácidos. Los aminoácidos liberados pueden ser utilizados en la síntesis de nuevas proteínas en la plántula en desarrollo o para proporcionar energía mediante la oxidación de su esqueleto carbonado. En los cereales las proteínas se almacenan en los gránulos de aleurona, acumulados, a su vez, en la capa de aleurona. En las semillas de dicotiledóneas la degradación de las proteínas de reserva se corresponde, generalmente, con una acumulación de aminoácidos libres en los cotiledones. (**Figura 7.6**)

Ácidos nucleicos: No hay duda en aceptar que la replicación del ADNes un fenómeno relativamente tardío en la germinación, iniciándose después de que tenga lugar una síntesis considerable de proteínas. Sin duda, en la codificación de éstas ha intervenido un ADNpreexistente, formado, probablemente durante las fases de maduración de la semilla. Por lo que respecta al ARN, tanto en las capas de aleurona de cereales como en los cotiledones de las leguminosas, se han detectado varias ribonucleasas cuya función es la de degradar el ARN en nucleótidos que son transportados al embrión para la síntesis de sus ARNs propios. Sin embargo, se ha demostrado que los nucleótidos que llegan al embrión no son suficientes para mantener su crecimiento, por lo que en los embriones debe haber también una síntesis de nucleótidos, utilizando probablemente el nitrógeno de las reservas proteicas.

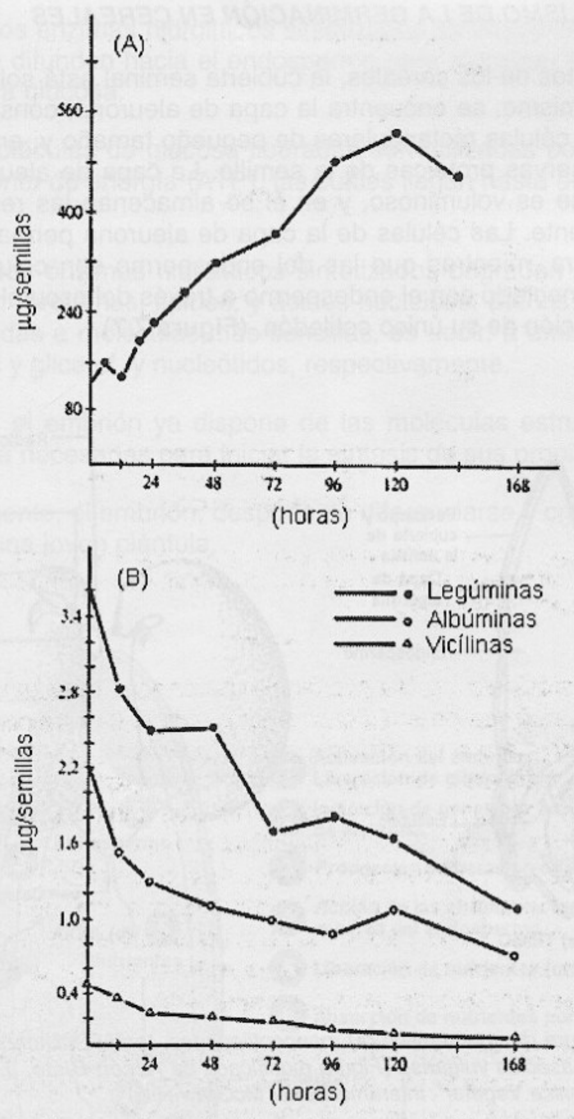


***Figura 7.6.** Acumulación de aminoácidos libres (A) y degradación de las proteínas de reserva (B) durante la germinación de semillas de Lens culinaris . (Figura modificada de **Barceló, J. et al.** 1984. "Fisiología Vegetal". Ediciones Pirámide, S.A.)*

Es importante conocer todos los aspectos relacionados con el metabolismo de las semillas, sobre todo en las especies cultivadas de interés industrial. Ejemplo de ello, es el malteado de los granos de cebada (*Hordeum vulgare*) en el proceso de fabricación de la cerveza; que mediante la activación de las enzimas hidrolíticas se produce la hidrólisis de las sustancias de reserva del endospermo.

7.4.3. METABOLISMO DE LA GERMINACIÓN EN CEREALES

En los frutos de los cereales, la cubierta seminal está soldada al pericarpo. Debajo del mismo, se encuentra la capa de aleurona, constituida por unas pocas capas de células rectangulares de pequeño tamaño y, en las que se encuentran las reservas proteicas de la semilla. La capa de aleurona recubre al endospermo, que es voluminoso, y en él se almacenan las reservas de almidón, principalmente. Las células de la capa de aleurona permanecen vivas en la semilla madura, mientras que las del endospermo son células muertas. El embrión está conectado con el endospermo a través del escutelo, el cual deriva de la transformación de su único cotiledón. (**Figura 7.7**)

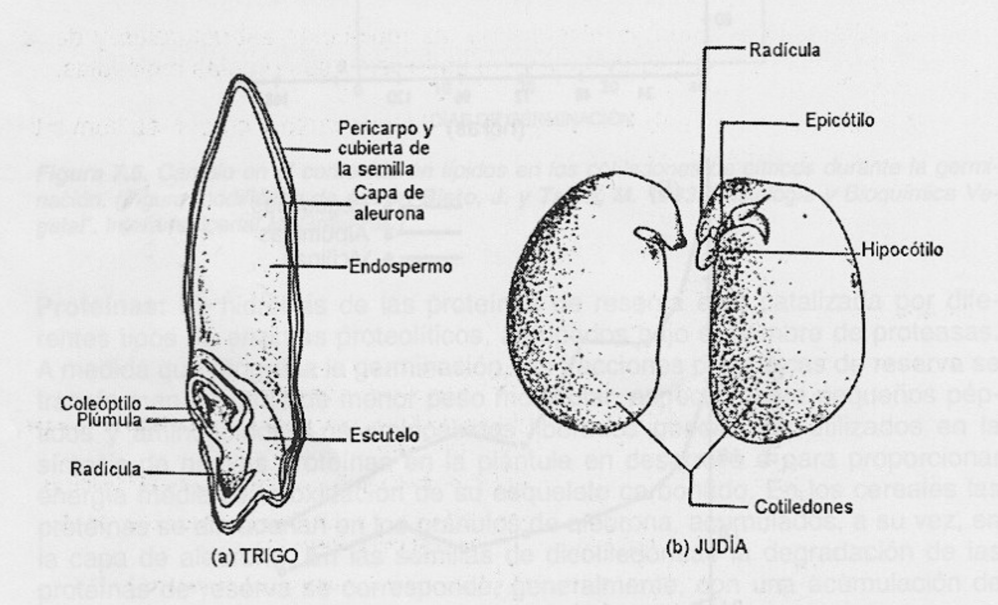


Figura 7.7. Estructura de una semilla: (a) monocotiledónea, trigo (Triticum sativum) y (b) dicotiledónea, judía (Phaseolus vulgaris). (Figura modificada de ***Azcón-Bieto, J. y Talón, M.*** *1993. "Fisiología y Bioquímica Vegetal". Interamericana/ McGraw-Hill.)*

Los acontecimientos metabólicos más relevantes en el proceso de germinación de los cereales son los que a continuación se detallan en la **figura 7.8.**

1. El embrión rehidratado libera giberelinas, que se difunden hacia el endospermo a través del escutelo.

2. Las giberelinas liberadas en el endospermo, al llegar a las células de la capa de aleurona, inducen la producción de enzimas hidrolíticos.

3. Entre los enzimas hidrolíticos sintetizados se encuentran las amilasas, que se difunden hacia el endospermo para hidrolizar los granos de almidón a glucosa.

4. Las moléculas de glucosa liberadas son utilizadas por el embrión como fuente de energía (ATP), las cuales llegan hasta el mismo por difusión.

5. Los otros enzimas hidrolíticos sintetizados degradan las restantes reservas: proteínas, lípidos, y ácidos nucleicos. Dichas reservas son hidrolizadas a moléculas más sencillas, es decir, a aminoácidos, ácidos grasos y glicerol, y nucleótidos, respectivamente.

6. Ahora, el embrión ya dispone de las moléculas estructurales y de la energía necesarias para iniciar la síntesis de sus propias moléculas.

7. Finalmente, el embrión, después de diferenciarse y crecer, se convertirá en una joven plántula.

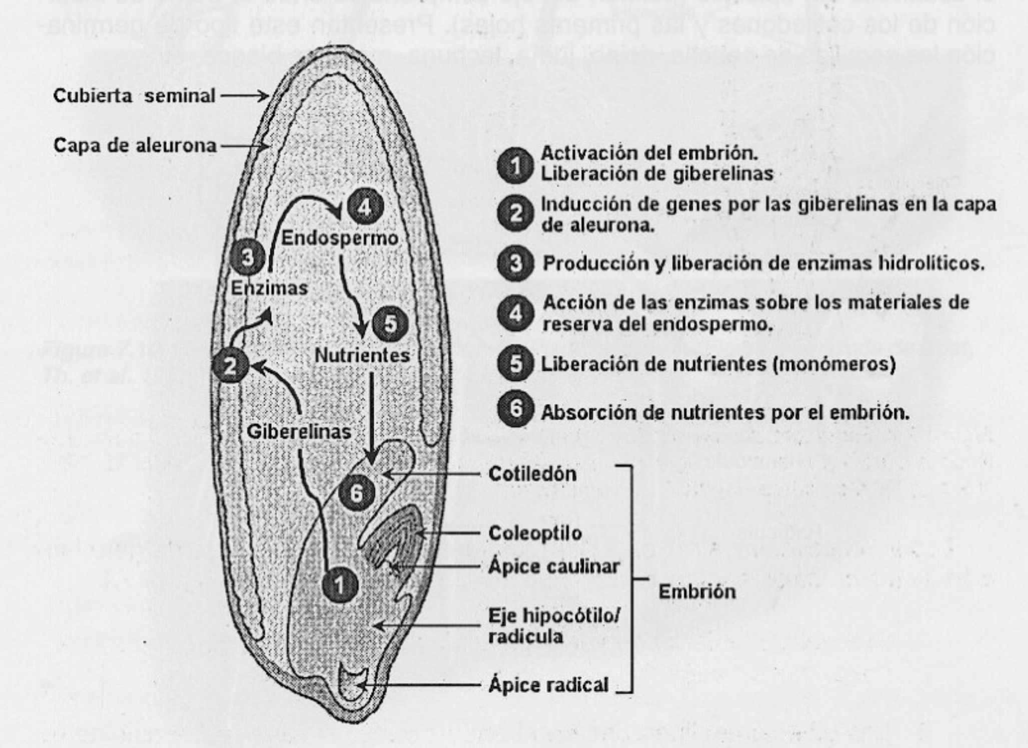


Figura 7.8. Acontecimientos metabólicos más relevantes en el proceso de la germinación de los cereales

7.5. TIPOS DE GERMINACIÓN

Los cambios fisiológicos y metabólicos que se producen en las semillas, no latentes, después de la imbibición de agua, tienen como finalidad el desarrollo de la plántula. Como se ha indicado anteriormente, este proceso comienza por la radícula, que es el primer órgano que emerge a través de las cubiertas. Sin embargo, en otras semillas el crecimiento comienza por el hipocótilo.

Las semillas, atendiendo a la posición de los cotiledones respecto a la superficie del sustrato, pueden diferenciarse en la forma de germinar. Así, podemos distinguir dos tipos deferentes de germinación: epigea y hipogea.

7.5.1. GERMINACIÓN EPÍGEA

En las plántulas denominadas epígeas (**Figura 7.9**), los cotiledones emergen del suelo debido de un considerable crecimiento del hipocótilo (porción comprendida entre la radícula y el punto de inserción de los cotiledones). Posteriormente, en los cotiledones se diferencian cloroplatos, transformándolos en órganos fotosintéticos y, actuando como si fueran hojas. Finalmente, comienza el desarrollo del epicótilo (porción del eje comprendida entre el punto de inserción de los cotiledones y las primeras hojas). Presentan este tipo de germinación las semillas de cebolla, ricino, judía, lechuga, mostaza blanca, etc.

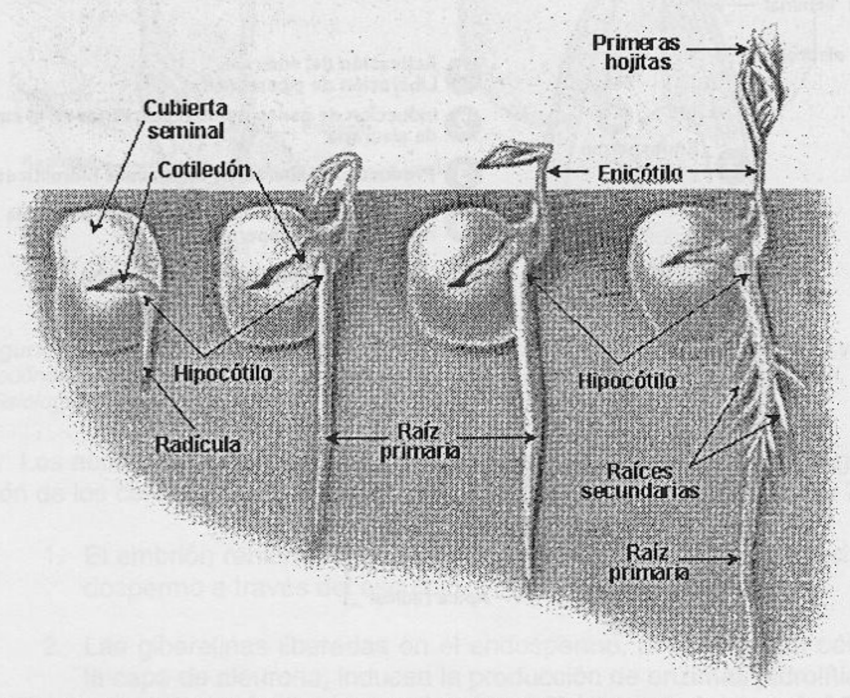


*Figura 7.9. Germinación epígea de la judía (Phaseolus vulgaris). (Figura modificada de **Rost, Th. et al.** 1997. "Plant Biology". Wadsworth Publishing Company.)*

7.5.2. GERMINACIÓN HIPÓGEA

En las plántulas hipogeas, los cotiledones permanecen enterrados; únicamente la plúmula atraviesa el suelo. El hipocótilo es muy corto, prácticamente nulo. A continuación, el epicótilo se alarga, apareciendo las primeras hojas verdaderas, que son, en este caso, los primeros órganos fotosintetizadores de la plántula (**Figura 7.10**). Este tipo de germinación lo presentan las semillas de los cereales (trigo, maíz, cebada, etc.), guisante, haba, robles, etc.

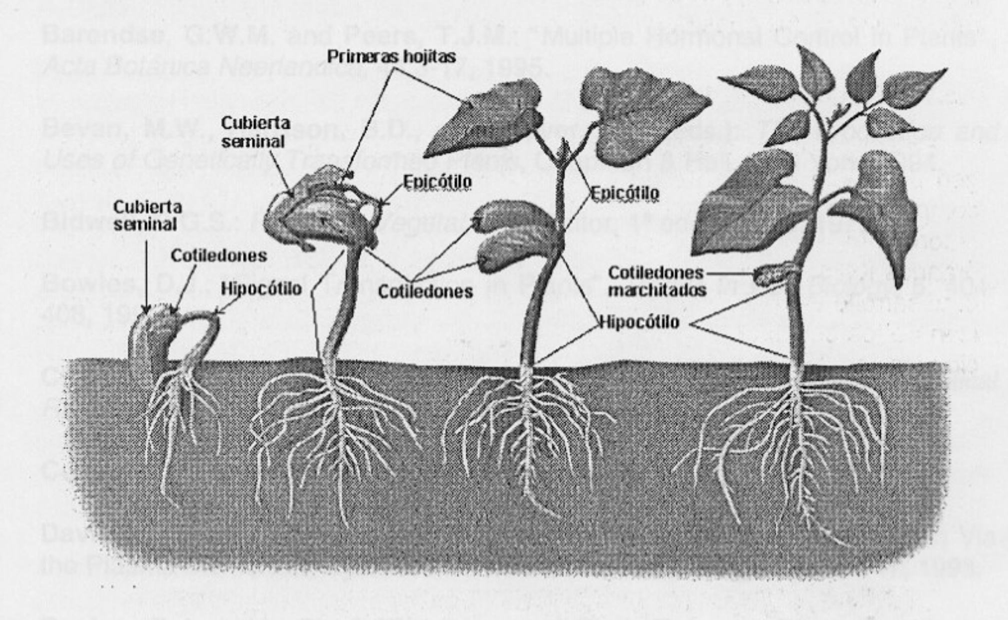


Figura 7.10. *Germinación hipógea del guisante (Pisum sativum). (Figura modificada de **Rost, Th. et al.** 1997. "Plant Biology". Wadsworth Publishing Company."*

BIBLIOGRAFÍA

Azcón-Bieto, J. y **Talón, M.** (eds.): *Fisiología y Bioquímica Vegetal*, Edicions Universitat de Barcelona/McGraw-Hill, Barcelona, 2000.

Barceló, J. et al.: *Fisiología Vegetal*, Ed. Pirámide, Madrid, 1998.

Barendse, G.W.M. and **Peers, T.J.M.**: "Multiple Hormonal Control in Plants", *Acta Botánica Neerlandica*, **44**:3-17, 1995.

Bevan, M.W., Harrison, B.D., and **Leaver, C.J.** (eds.): *The Production and Uses of Genetically Transformed Plants*, Chapman & Hall, New York, 1994.

Bidwell, R.G.S.: *Fisiología Vegetal*, AGT Editor, 1ª ed., Mexico, 1979.

Bowles, D.J.: "Signal Transduction in Plants", *Trends in Cell Biology*, **5**: 404-408, 1995.

Chamovitz, D.A. and **Xing-Wang, D.**: "Light Signalling in Plants", *Critical Reviews in Plants Sciences*, **15**: 455-478, 1996.

Cohen, J.: "The Genomic Gamble", *Science*, **275**: 767-772, 1997.

Davies, E.: "Intercellular and Intracellular Signals and Their Transduction Via the Plasma Membrane-Cytoskeleton Interface", *Cell Biology*, **4**: 139-147, 1993.

Davies, P.J. (ed.): *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*, Martinus Nijhoff Publishers, Boston, MA, 1987.

Davies, P.J. (ed.): *Plant Hormones: Physology, Biochemistry and Molecular Biology*, Kuwer Academic Publishers, Dordrech, 1995.

Fluhr, R. and **Mattoo, A.K.**: "Ethylene –Biosynthesis and Molecular Perception", *Critical Reviews in Plant Sciences*, **15**: 479-523, 1996.

Fosket, D.E.: *Plant Growth and Development, A Molecular Approach*, Academic Press, San Diego, 1994.

Frederick, R.J. and **Egan, M.:** "Environmentally Compatible Applications of Biotechnology", *BioScience*, 44: 529-535, 1994.

Galston, A.W.: *Life Processes of Plants*, Scientific American Library, W.H. Freeman, New York, 1994.

Giampietro, M.: "Sustainability and Technological Development in Agriculture", *BioScience*, 44: 677-689, 1994.

Gil-Martínez, F.: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, Ed. Mundi-Prensa, Madrid, 1995.

Guardiola, J.L. y **García Luis, A.:** *Fisiología Vegetal I: Nutrición y Transporte*. Ed. Síntesis (Ciencias de la Vida, nº 16), 1990.

Hopkins, W.G.: *Introduction to Plant Physiology*, 2nd ed., William G. Hopkins, New York , John Wiley, 1999

Irving, M.S., Ritter, S., Tomos, A.D. and **Koller, D.:** "Phototropic Response of the Bean Pulvinus: Movement of Water And Ions", *Botanica Acta*, 110: 118-126, 1997.

Jean, R.V.: *Phyllotaxis: A Systemic Study in Plant Morphogenesis*, Cambridge University Press, New York, 1994.

Jenkins, G.I., Christie, J.M., Fuglevand, G., Long, J.C., and **Jackson, J.A.**: "Plant Response to UV and Blue Light: Biochemical and Genetic Approaches", *Plant Science*, **112**: 117-138, 1995.

Kieliszewski, M.J., and **Lamport, D.T.A.**: "Extensin: Repetitive Motifs, Functional Sites, Post-Translational Codes, and Phylogeny", *The Plant Journal*, **5**: 167-172, 1995.

King, J.: *Reaching for the Sun: How Plants Work*, Cambridge University Press, New York, 1997.

Koller, D.: "Light-Driven Leaf Movements", *Plant, Cell and Environment*, **13**: 615-632, 1990.

Kozlowski, Th.T., and **Pallardy, S.G.**: *Growth Control in Woody Plants*, Academic Press, San Diego, 1997.

Lang, G.A. (ed.): *Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 1996.

Marion-Poll, A.: "ABA and Seed Development", *Trends in Plant Science*, **2**: 447-487, 1997.

Marshall, E.: "Gene Tests Get Tested", *Science*, **275**: 782, 1997.

Mauseth, J.D.: *Botany. An Introduction to Plant Biology*, Jones and Barlett Publishers, Canada, 1998.

Mohr, H. and **Schopfer, P.**: *Plant Physiology*, Springer-Verlag, New York, 1995.

Moore, R. et al.: *Botany*, WBC-McGraw-Hill, 2nd ed., 1998.

Ortolà, A.G.: *Apuntes Básicos de Fisiología Vegetal,* Universidad Politécnica, Valencia, 2000.

Parks, B.M. and **Hangarter, R.P.**: "Blue Light Sensory Systems in Plants", *Cell Biology*, **5**: 347-353, 1994.

Pérez García, F. y **Martínez-Laborde, J.B.**: *Introducción a la Fisiología Vegetal*, Ed. Mundiprensa, Madrid, 1994.

Quail, P.H.: "Photosensory Perception and Signal Transduction in Plants", *Current Opinion in Genetic and Development*, **4**: 652-771, 1994.

Raven, P.H., Evert, R.F. and **Eichhorn, S.E.**: *Biology of Plants*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., Worth Publishers, New York, 1999.

Rost, Th.L. et al.: *Plant Biology*, Wadsworth Publishing Co., 1998.

Salisbury, F.B. and **Ross, C.W.**: *Plant Physiology*, 4th ed., Wadswoth, Belmont, CA, 1992.

Salisbury, F.B. y **Ross, C.W.**: *Fisiología de las Plantas*, Paraninfo, 2000.

Smith, H.: "Phytochrome Transgenics: Functional, Ecological and Biotechnological Applications", *Cell Biology*, **5**: 315-325, 1994.

Stearns, T.: "The Green Revolution", *Current Biology*, **5**: 262-264, 1995.

Taiz, L. and **Zeiger, E.**: *Plant Physiology*, 2nd ed., Sinauer, Sunderland, MA, 1998.

Wayne, R.: "Excitability in Plant Cells"; *American Scientist*, **81**: 140-190, 1993.



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

EDITORIAL